

THÈSE

En vue de l'obtention du grade de

Docteur de l'Université de Lyon délivré par l'Ecole Normale Supérieure de Lyon

Discipline : Chimie

Laboratoire de chimie de l'ENS de Lyon

Ecole Doctorale de chimie de Lyon

présentée et soutenue publiquement le 4 décembre 2015

par Madame Laure-Lise Chapellet

**Conception et synthèse de nouvelles plateformes moléculaires de type cryptophane.
Application à l'encapsulation du xénon et de cations métalliques en solution aqueuse.**

Directeur de thèse : M. Thierry Brotin

Après l'avis de . M. Jean-Claude Chambron

M. Vincent Huc

Devant la commission d'examen formée de :

M. Thierry Brotin, Directeur de recherche à l'ENS de Lyon

Directeur

M. Jean-Claude Chambron, Directeur de Recherche à l'Université de Bourgogne

Rapporteur

M. Vincent Huc, Chargé de Recherche à l'Université de Paris SUD 11

Rapporteur

M. Alexandre Martinez, Professeur à l'École de Centrale Marseille

Examineur

M. Florent Perret, Maître de Conférences à l'Université de Lyon 1

Examineur

M. Bernard Rousseau, Directeur de Recherche au CEA de Saclay

Examineur

Remerciements

Ce manuscrit est le fruit de mes années de thèse au laboratoire de chimie de l'ENS de Lyon et est l'aboutissement de 8 années d'études à l'ENS de Lyon. Durant tout ce temps, j'ai eu la chance d'avoir autour de moi de nombreuses personnes sans qui ce chemin n'aurait pas été le même et que je souhaite à présent remercier chaleureusement.

Je remercie tout d'abord Chantal Andraud de m'avoir accueillie au sein du laboratoire de chimie de l'ENS de Lyon pour cette thèse et de m'avoir toujours offert sa confiance et son écoute.

Un merci particulier à Thierry Brotin pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce sujet et pour m'avoir encadré au cours de ces années.

Un grand merci à Jean-Pierre Dutasta et Alexandre Martinez pour leur soutien, et pour avoir toujours répondu présents pour des conseils et des discussions scientifiques.

Je remercie chaleureusement les Dr. Jean Claude Chambron et Vincent Huc d'avoir accepté d'être rapporteurs pour ce manuscrit et pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail. Merci également à Alexandre Martinez, Florent Perret et Bernard Rousseau d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Je tiens à remercier les chercheurs ayant contribué à ces travaux. Merci au Dr. Patrick Berthault, au Dr. Céline Boutin et à Emilie Mari pour avoir fait les études de RMN du xénon au CEA de Saclay. Merci également au Dr. Nicolas Vanthuyne et à Marion Jean de l'Université de Aix Marseille pour leur travail de dédoublement chiral.

J'ai eu la chance de bosser dans un labo avec une ambiance incomparable. Désolée pour les physiciens qui nous ont entendus rire et chanter (si peu) fort. Alors merci à mes voisins de paillasse ! Laure, pour ses conseils et pour la confiance qu'elle m'accorde pour la suite ! Merci à Delphine et JC pour des fous rires mémorables, de la bonne foi à revendre, des goupillons, des bonbons, des placards si bien rangés, ... Mais plus sérieusement, un gigantesque merci pour votre aide et pour avoir été là dans les bons moments et dans les moins bons. Je suis ravie de repartir avec vous pour la suite, et je peux déjà vous promettre que je serai toujours aussi zen sur le rangement du labo, toujours aussi et délicate avec la verrerie, et toujours aussi à jour dans mes paiements de loyer !

Un grand merci à Bastien (le petit), avec qui on se suit à la trace à l'ENS depuis maintenant 8 ans, et avec qui c'est un vrai plaisir de travailler, déconner et faire des pauses pomme au quotidien. Bon par contre je vote contre l'augmentation du tarif des consultations maintenant que tu es docteur...

Merci également à Sandrine de m'avoir fait confiance pour mon premier Job de secrétaire : « Secrétariat de Sandrine Denis-Quanquin, j'écoute ? Ah non, elle est en congrès jusqu'à mardi ☺ ». Sinon, désolée d'être un tel chat noir avec le 500 MHz ! Merci pour les débuggages soir et week-end et pour tout le temps passé sur mes RMN. Et enfin, merci de m'avoir accueillie pendant ma rédaction !

En quatre ans mes co-bureau(s) ont pas mal changé, mais ce qui est sûr c'est que je ne me suis jamais ennuyée ! Merci à Bastien (le grand) pour m'avoir fait découvrir Afida et Mylène, et pour tous les « bol de riz » à emporter ! Bon, et après elles sont arrivées, alors merci à Sara(l'œuf), Sara(Nooki), Sara(lafolle), Sara(sansH !), Sara(croche), Sara(colle), Sara(l'oeil qui fait peur) et Sara(la fille qui anticipe le plus au monde). En vrai, je vous cœur, même si vous êtes 8 là-dedans ! Merci pour tous les supers moments passés et pour m'avoir supporté dans les tous les états ! Merci à Marc-Alexandre qui

est venu passer une année et des vendredi-craquages mythiques avec nous (AND ELBOWS !). Et enfin merci à Maëlle qui est venue compléter *Les Josettes*© (copyright Romain Réocreux *alias le rire le plus reconnaissable du monde*) et qui est juste un puits sans fond de gentillesse, de bonne humeur et de chansons de Disney !

Je tiens également à remercier tous les amis qui m'ont accompagnée et soutenue pendant ces années, en plus de ceux déjà cités je remercie : Aline qui a été une binôme d'enfer et une amie indéfectible depuis le début, Christelle qui après quelques années d'égarement à Strasbourg et Genève nous a finalement rejoint, Anna l'expatriée américaine qui finit le quatuor de choc et avec qui nous avons partagé les longues heures d'Hatier pendant la première année de thèse, Kévin qui est maintenant moitié chimiste à force de nous entendre en parler tout le temps, Maxime, Benjamin, Vanessa, Stéphane, Martin, Anne-Gaëlle, Jeremy, Simon, Raymond, Romain pour les discussions, les soirées, les apéros, les Ninkas, les goûters, les pique-niques...et pour votre présence et votre bonne humeur en général !

Merci à mes collègues de cryptophanes : les australiens James and Phil *Thanks guys !*, au nouvel arrivé Nicolas et à Emma, stagiaire en or qui détient sûrement le record du nombre de colonnes et de plaques prépas pour la même séparation !

Pendant ces quatre années de thèse j'ai eu la chance d'enseigner à l'ENS. J'aimerais remercier Philippe Maurin, Paul Fleurat-Lessard, Cyrille Monnereau, Alexandre Martinez, Martin Vérot et Jean-François Le Maréchal pour la confiance qu'ils m'ont toujours accordée en enseignement et pour leur soutien dans mes différents projets. J'aimerais remercier également les différents membres de l'équipe technique du département de chimie avec qui j'ai pu travailler pour leur aide précieuse, que ce soit pour les TP ou pour les projets de vulgarisation. Alors merci à Sandrine, Elodie, Emmanuelle, Clément, Claude, Ramlat, Maran et Houria. Merci enfin à Jérôme et Fadéla pour leur efficacité et leur gentillesse qui rendent notre travail beaucoup plus simple et agréable.

Merci à tous ceux qui participent à la bonne ambiance quotidienne: Yann (merci pour les leçons de botanique et désolée, je ne pars pas ! ☺), Damien, Corinne, Corentin, Maxime, Christian, Anh-Thy, Margaux, Paul, Daewei, Zheng. Sans oublier tous ceux qui sont déjà partis : Olivier, Pauline, Guillaume&Martin, Alexandre H, Sylvie, Christophe K, Anaïs, Alyssa, Amaury, Estelle, Benjamin Bousquet.

Merci également à tous les membres du laboratoire que je vois moins souvent mais qui m'ont toujours accueillie avec gentillesse et bonne humeur.

Et pour finir je tiens à remercier ma famille qui a été présente et m'a soutenue au cours de toutes ces années de thèse. Un merci tout spécial à Brigitte qui a accepté de relire ce manuscrit en temps record !

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE.....	3
CHAPITRE 1: BIBLIOGRAPHIE.....	7
I. La chimie supramoléculaire	8
I.1. Les concepts de base	8
I.2. La reconnaissance moléculaire.....	10
I.2.a. Complémentarité	10
I.2.b. Pré-organisation du récepteur	12
I.3. Quelques familles de récepteurs	13
II. Les cryptophanes – Présentation générale	14
II.1. Structure	14
II.1.a. Stéréochimie et symétrie.....	15
II.1.b. Conformations	16
II.2. Synthèse	17
II.2.a. Méthode directe	18
II.2.b. Méthode template	19
II.2.c. Méthode de couplage.....	19
II.2.d. Stratégies d'hydrosolubilisation des cryptophanes	20
II.3. Utilisation en reconnaissance moléculaire	22
III. Biosondes pour l'IRM du xénon 129 hyperpolarisé	24
III.1. Présentation de l'IRM	24
III.2. Hyperpolarisation	26
III.3. ³ He hyperpolarisé	27
III.4. ¹³ C hyperpolarisé	27
III.5. ¹²⁹ Xe hyperpolarisé.....	28
III.5.a. Une compatibilité biologique	29
III.5.b. Une grande sensibilité à son environnement chimique	29
III.5.c. Une utilisation in vivo	30
III.5.d. Une fonctionnalisation possible	30
III.5.e. L'hyperpolarisation par pompage optique.....	31
III.5.f. L'HyperCEST :	33
III.5.g. Structures encapsulant le xénon.....	36
III.6. Biosondes cryptophanes pour l'IRM du xénon	41
IV. Encapsulation des cations métalliques césium et thallium	46
IV.1. Enjeu.....	46
IV.2. Résultats de complexation par les cryptophanes	48
IV.2.a. Chronologie.....	48
IV.2.b. Les propriétés chiroptiques des cryptophanes	49
IV.2.c. Étude de la complexation des cations métalliques dans les dérivés phénoliques des cryptophanes	55
V. Présentation des objectifs.....	62
V.1. Plateforme moléculaire pour la synthèse de biosondes au xénon 129 hyperpolarisé.....	62
V.2. Plateformes moléculaires pour l'encapsulation des cations Cs ⁺ et Tl ⁺ en solution aqueuse	63

CHAPITRE 2: CONCEPTION ET SYNTHÈSE DE CRYPTOPHANES POUR LA COMPLEXATION DU XÉNON ET DES CATIONS MÉTALLIQUES	65
I. Conception des cibles synthétiques	66
I.1. Conception de cryptophanes pour la complexation des cations Cs ⁺ et Tl ⁺	67
I.2. Conception de plateformes pour les biosondes pour l'IRM du xénon 129 hyperpolarisé.	67
II. Analyse rétrosynthétique de l'accès au cryptophane 1	68
III. Synthèse du cryptophane 1	69
III.1. Stratégie de synthèse avec une cyclisation par l'acide formique	71
III.2. Stratégie de synthèse avec une cyclisation par le triflate de scandium	78
IV. Obtention des plateformes pour les biosondes au xénon 129	80
IV.1. Synthèse de la plateforme 2 comportant les acides carboxyliques.....	80
IV.2. Synthèse de la plateforme 3 comportant les groupements polyéthylène glycol.....	81
V. Fonctionnalisation de l'alcool central.....	83
V.1. Réactivité nucléophile de la fonction alcool	84
V.2. Réactivité électrophile de la fonction mésylate.....	87
V.3. Oxydation de la fonction alcool secondaire	89
VI. Deuxième génération de plateforme	90
VI.1. Introduction d'une fonction propargyle.....	91
VI.2. Introduction d'une nouvelle fonction alcool plus éloignée du cryptophane.....	92
VI.2.a. Réaction d'alkylation	92
VI.2.b. Réaction de déméthylation	93
VI.2.c. Introduction des groupements hydrosolubilisants.....	94
VI.3. Obtention d'une plateforme présentant une fonction électrophile	96
VII. Synthèse d'un bras de reconnaissance comportant l'unité NTA	98
VII.1. Présentation des biosondes existantes	98
VII.2. Conception d'un bras NTA plus court.....	100
VIII. Conclusion et perspectives	107
CHAPITRE 3: ÉTUDE DES PLATEFORMES PAR RMN DU XÉNON-129.....	109
I. Étude de la complexation du xénon par spectroscopie RMN du ¹²⁹Xe hyperpolarisé.....	110
I.1. Avancées dans la détection du xénon, la spectroscopie Ultrafast UFZ.....	110
I.2. Résultats obtenus avec les nouveaux cryptophanes synthétisés.....	116
I.2.a. RMN du xénon 129 en milieu organique.....	116
I.2.b. RMN du xénon 129 hyperpolarisé en milieu aqueux.....	117
II. Conclusion et perspectives	120
CHAPITRE 4: SYNTHÈSE DE CRYPTOPHANES ÉNANTIOPURS ET ÉTUDE DE LA COMPLEXATION DES CATIONS MÉTALLIQUES.....	121
I. Présentation et objectifs.....	122
II. Obtention de cryptophanes énantiopurs	124
II.1. État de l'art	124
II.1.a. Synthèse asymétrique de cryptophanes énantiopurs	124
II.1.b. Synthèse de cryptophanes énantiopurs à partir des CTB énantiopurs.....	126
II.1.c. Obtention de cryptophanes énantiopurs par HPLC chirale.....	127

Sommaire

II.1.d. <i>Obtention de cryptophanes énantiopurs par formation de diastéréoisomères</i>	127
II.2. Dédoublment du mélange racémique par HPLC chirale	130
II.3. Dédoublment du mélange racémique par voie chimique.....	132
III. Étude de complexation des cations par dichroïsme circulaire	139
III.1. Spectres ECD du cryptophane (–)- <i>MM</i> -1 lors de l’ajout de césium	140
III.2. Spectres ECD du cryptophane (–)- <i>MM</i> -1 lors de l’ajout de thallium	142
IV. Obtention des données thermodynamiques par titrage calorimétrique	143
V. Mise en évidence de la complexation par spectroscopie RMN	146
V.1. RMN du césium.....	147
V.2. RMN du Thallium	150
VI. Conclusion et perspectives	152
CONCLUSION GENERALE	153
PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	157
General remarks.....	158
Synthesized compounds	159
Analytical chiral HPLC separation for compound cryptophane 22	186
ITC titration plots	188

Liste des abréviations et symboles

@	symbole signifiant l'inclusion d'un substrat dans une molécule hôte
ADN	acide désoxyribonucléique
B_0 / B	champ magnétique
CB	cucurbituril
CCM	chromatographie sur couche mince
CD	Circular Dichroism
CEST	Chemical Exchange Saturation Transfer
CIP	Cahn Ingold Prelog
CLOA	Combinaison Linéaire d'Orbitales Atomiques
COSY	CORrelated SpectroscopY
Cste	constante
CTB	cyclotrivétribenzylène
d	doublet
δ	déplacement chimique
D	force dipolaire d'une transition UV/ECD
Dabco	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane
DCM	dichlorométhane
ΔE	différence d'énergie entre deux niveaux de spin
DHP	dihydropyrane
DIPEA	diisopropyléthylamine
DMAP	diméthylaminopyridine
DMF	diméthylformamide
DMSO	diméthylsulfoxyde
e	fonction exponentielle
E	électrophile
$\epsilon/\epsilon_G/\epsilon_D$	coefficient d'absorption molaire
ECD	Electronic Circular Dichroism
éq	équivalents
γ	rapport gyromagnétique
h	constante de Planck
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
ITC	Isothermal Titration Calorimetry
J	constante de couplage en Hz
K	constante d'association
k	constante de Boltzman
λ	longueur d'onde

I	nombre quantique azimutal
m	multiplet
\vec{m}	moment dipolaire magnétique de transition
$\vec{\mu}$	moment dipolaire électrique de transition
m_J	nombre quantique magnétique
M	moles par litre
Ms	mésyl
N_α / N_β	population des niveaux α et β
NTA	nitriloacétique
Nu	nucléophile
OTf	triflate
P	polarisation magnétique
PEG	polyéthylèneglycol
ppm	parties par million
PPTS	pyridinium para-toluenesulfonate
rac	racemic
R	force rotationnelle de transition
réf	référence
RMN/ NMR	résonance magnétique nucléaire
SEOP	Spin Exchange Optical Pumping
S_N	substitution nucleophile
t	triplet
T	température
T₁	temps de relaxation longitudinal
T. A.	temperature ambiante
TBDPS	tertibutyldiphénysilyl-
TD-DFT	Time Dependent Density Functional Theory
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tétrahydrofurane
THP	tétrahdropyrane
TLC	Thin Layer Chromatography
TMS	triméthylsilyle
VCD	Vibrational Circular Dichroism
V_{vdw}	volume de van der Waals
UFZ	ultrafast Z spectroscopy
UV	ultraviolet

Introduction générale

Les cryptophanes sont des cages moléculaires qui présentent des cavités, ce qui leur confère des propriétés d'encapsulation de divers substrats. Ces molécules ont été mises au point dans les années 80 par André Collet et ses collaborateurs. La chimie de ces structures s'est fortement développée depuis ces premiers travaux, en particulier au sein du laboratoire de chimie de l'ENS de Lyon. La capacité des cryptophanes à encapsuler des atomes de xénon est particulièrement intéressante et a ouvert la voie au développement, depuis une quinzaine d'années, de biosondes pour l'IRM du xénon 129 hyperpolarisé. Cette technique d'IRM connaît un grand essor et les progrès techniques de détection du xénon accomplis ces dernières années sont très prometteurs. L'enjeu pour les chimistes est à présent de synthétiser des cages moléculaires permettant de véhiculer le xénon dans l'organisme humain pour le conduire au point de détection souhaité. Le premier système de ce type, est apparu en 2001 et est dû à l'équipe de A. Pines en Californie.¹ Ce domaine a fortement évolué et une suite d'étapes clés ont été franchies depuis, jusqu'à l'obtention d'images d'IRM du 129 xénon hyperpolarisé *in cellulo*. La sensibilité et la non-toxicité de cette technique d'IRM encouragent les prochaines études à se diriger vers des applications *in vivo*. Dans cet objectif, de nouvelles synthèses doivent être mises au point pour permettre d'obtenir les biosondes efficace dans des quantités importantes. L'un des objectifs de cette thèse a donc été de concevoir de nouveaux cryptophanes pouvant être utilisés comme plateformes moléculaires à partir desquelles on peut penser construire tout un ensemble de nouvelles biosondes.

Parallèlement à ces travaux, un autre champ d'application des cryptophanes s'est développé au cours des cinq dernières années. Il s'agit de l'encapsulation de cations métalliques toxiques comme le Cs^+ et le Tl^+ dans des cryptophanes polyphénoliques en solution aqueuse basique. La purification des eaux polluées par des cations représente un enjeu économique et écologique majeur. Les systèmes développés au sein du laboratoire de l'ENS de Lyon présentent des propriétés de complexation de ces cations qui ouvrent la voie au développement de nouveaux cryptophanes pouvant être fonctionnalisés pour créer des « filtres » pour les eaux polluées. Ces applications sont encore lointaines, et nécessitent en amont la conception et la synthèse de cryptophanes dont la structure sera modifiée pour permettre leur fixation sur un support solide, sans perte des propriétés de complexation. Le second objectif de cette thèse a donc été de développer de tels systèmes et d'étudier leurs propriétés d'encapsulation des cations Cs^+ Tl^+ .

Ce manuscrit décrit les travaux menés au cours de mes années de thèse au sein du laboratoire de chimie de l'ENS de Lyon. Il se compose de quatre chapitres. Le premier présente les objectifs de ces travaux au travers d'une étude bibliographique des différents systèmes étudiés. Les cryptophanes sont introduits par la présentation des notions importantes de la chimie supramoléculaire et par un exposé des principales avancées réalisées dans la chimie de ces systèmes. Deux champs d'application sont ensuite développés : les biosondes pour l'IRM du xénon hyperpolarisé et l'encapsulation des cations

Introduction générale

métalliques, et les principales techniques mises en jeu pour caractériser chacun de ces systèmes sont explicitées.

Le deuxième chapitre s'intéresse à la conception des plateformes moléculaires et aux différentes voies de synthèse mises en place pour les obtenir. Les essais de fonctionnalisation de celles-ci ont également explicités.

Le troisième chapitre décrit les essais de complexation du xénon hyperpolarisé qui ont été menés en collaboration avec Patrick Berthault au CEA de Saclay.

Enfin le dernier chapitre aborde les enjeux de l'obtention de cryptophanes sous forme énantiopure et les essais qui ont été menés pour réaliser le dédoublement du racémique d'une plateforme d'intérêt pour la complexation des cations. Les propriétés d'encapsulation des cations Cs^+ et Tl^+ sont ensuite étudiées par différentes techniques et comparées à celles des cryptophanes déjà décrits dans la littérature.

Chapitre 1: Bibliographie

I. La chimie supramoléculaire

I.1. Les concepts de base

Pendant des années, la chimie organique a donné la part belle à la chimie moléculaire, et les chimistes ont développé des techniques de plus en plus sophistiquées et élégantes pour la synthèse de molécules de plus en plus complexes. Cette chimie repose sur la formation et la rupture de liaisons covalentes. Cependant, l'étude de processus intervenant dans les systèmes biologiques, comme le transport de l'oxygène dans le sang ou encore la formation des associations anticorps-antigènes, a démontré l'importance de la maîtrise d'un nouveau domaine de la chimie dominé par les interactions non covalentes. Ceci a motivé l'apparition, à la fin des années soixante, de la *chimie supramoléculaire*, terme introduit par Jean-Marie Lehn en 1978², qu'il définit comme « la chimie au-delà de la molécule »³.

La chimie supramoléculaire est l'étude des assemblages entre molécules, qualifiés de complexes, et des interactions intermoléculaires de faibles énergies assurant leur stabilité. Les interactions intermoléculaires sont dites « faibles » comparées aux énergies mises en jeu dans les liaisons covalentes. Cependant, elles sont souvent présentes en grand nombre, ce qui permet l'obtention d'édifices stables. Elles font intervenir des forces de natures différentes et couvrent une large gamme d'énergies. Les principales interactions intermoléculaires sont explicitées par la suite.

- *Les interactions coulombiennes.* Ces interactions traduisent la force coulombienne d'attraction entre une charge positive et une charge négative. Les énergies mises en jeu sont de l'ordre de 100 à 350 kJ.mol⁻¹. Elles se retrouvent par exemple dans la formation de paires d'ions, ou encore à l'état solide dans la formation de cristaux ioniques comme NaCl.
- *Les interactions ion-dipôle.* Il s'agit de l'alignement d'un dipôle en réaction à la présence d'une charge. Ces interactions se retrouvent par exemple dans les complexes formés par les éthers couronnes de Pederson et les cations métalliques (Figure 1).^{4,5} Elles font intervenir des énergies de l'ordre de 50 à 200 kJ.mol⁻¹.

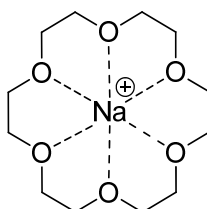


Figure 1 : Structure d'un complexe entre un cation sodium et un éther couronne de Pederson 18-C-6.

- *Les interactions de van der Waals.* Elles recouvrent un ensemble d'interactions non dirigées résultant de l'alignement de moments dipolaires de type permanents, induits et/ou instantanés

entre deux entités. Ces interactions se retrouvent sous une forme ou une autre dans un très grand nombre de structures supramoléculaires. Ces forces correspondent à des énergies de l'ordre de 5 à 50 kJ.mol⁻¹.

- *Les liaisons hydrogènes.* Ces interactions ont lieu entre un atome électronégatif et un atome d'hydrogène lui-même lié à un autre atome électronégatif. Ces liaisons entrent en jeu dans la stabilité de nombreux édifices supramoléculaires et sont en partie responsables de la stabilité de la structure en double hélice de l'ADN (Figure 2). Les énergies mises en jeu sont généralement de l'ordre de 5 à 60 kJ.mol⁻¹, cependant elles peuvent aller jusqu'à 120 kJ.mol⁻¹ dans le cas de composés présentant une grande acidité comme HF₂⁻.⁶

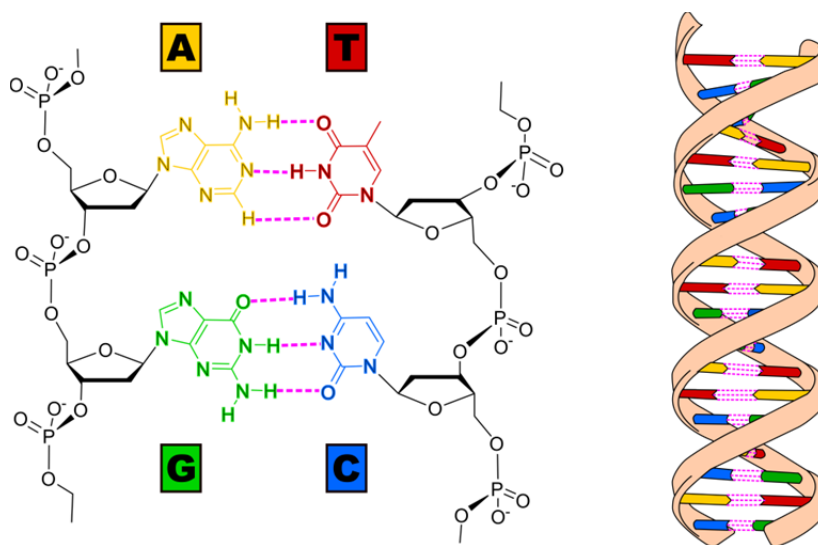


Figure 2 : Liaisons hydrogène (en rose) dans la structure d'ADN. À gauche : représentation d'une partie de la chaîne d'ADN montrant les liaisons hydrogène qui s'établissent entre bases nucléiques d'adénine (A) et de thymine (T), d'une part, et entre la guanine (G) et la cytosine (C), d'autre part. À droite : représentation schématique de la double hélice d'ADN montrant les mêmes liaisons hydrogène.

- *Les interactions π -cations.* Il s'agit d'une force d'attraction entre un cation et le système π d'une molécule aromatique. Ces interactions permettent par exemple d'expliquer les énergies de liaison entre le cation Li⁺ ou l'ammonium NH₄⁺ et le benzène qui atteignent respectivement 158 et 80 kJ.mol⁻¹.⁷
- *Les interactions π -anions.* Ces interactions expliquent l'attraction entre un anion et un cycle aromatique pauvre en électrons. Elles mettent en jeu des énergies allant de 20 à 70 kJ.mol⁻¹.⁸
- *Les interactions π - π .* Ces interactions se trouvent entre deux cycles aromatiques, elles sont d'autant plus fortes que l'un des cycles est riche en électrons, tandis que l'autre est appauvri en électrons. Elles viennent s'ajouter aux liaisons hydrogène évoquées plus haut pour expliquer la stabilité de la double hélice de l'ADN. En effet, les cycles aromatiques des nucléotides successifs interagissent en donnant lieu à des énergies de stabilisation de 45 à 60 kJ.mol⁻¹.⁹

- *Effet solvophobe*. Il ne s'agit pas, à strictement parler, d'une force spécifique, mais de la manifestation d'une minimisation de l'énergie d'un système où des molécules sont placées dans un solvant avec lequel elles n'ont que peu d'affinité. Les molécules en question se rapprochent alors les unes des autres, formant ainsi des agrégats moléculaires qui permettent de limiter leur contact avec le solvant. Cet effet est souvent rencontré pour des molécules apolaires placées dans un solvant polaire comme l'eau. Dans le cas spécifique de l'eau, on parle d'*effet hydrophobe*.⁶ L'origine de cet effet est principalement entropique, puisque l'agrégation des molécules apolaires permet de maximiser les degrés de liberté des molécules de solvant qui s'organisent autour du seul agrégat, au lieu de s'organiser autour de chaque molécule de soluté.

La caractérisation de ces liaisons faibles a constitué un défi technique qui a été résolu tant par l'avènement de méthodes de caractérisation et d'analyse (IR, Raman, UV, RMN, la spectroscopie de masse ou encore la diffraction par rayons X) que par le développement de méthodes de modélisation théorique comme la DFT, qui viennent rationaliser les observations expérimentales ou encore servir d'outil prédictif. Le développement de la chimie supramoléculaire s'est donc fait de concert avec celui d'une partie de ces outils.

I.2. La reconnaissance moléculaire

Lors de la formation d'un complexe supramoléculaire, on peut visualiser l'une des entités comme un « récepteur » ou un « hôte » auquel vient se lier une autre entité nommée « substrat » ou « invité ». L'observation de phénomènes biologiques comme la formation d'un complexe entre un substrat et une enzyme montre qu'en plus d'être efficace, cette complexation est sélective. En effet, parmi toutes les molécules présentes dans le milieu biologique, le substrat en question est complexé très majoritairement par rapport aux autres. On parle alors de reconnaissance moléculaire : le récepteur peut *reconnaître* un substrat parmi d'autres. Cette reconnaissance est d'autant plus efficace que l'enthalpie libre de complexation du complexe d'intérêt est grande (en valeur absolue) devant celles des autres processus de complexation. Pour atteindre une bonne reconnaissance moléculaire, il faut associer une *complémentarité* du couple hôte/invité, et une *pré-organisation* du récepteur.

I.2.a. Complémentarité

Les meilleures reconnaissances moléculaires sont obtenues lorsque les molécules hôtes et invités sont complémentaires. Ce concept est développé par Emil Fisher en 1894 pour décrire la reconnaissance d'un substrat par une enzyme, il parle alors d'une complémentarité de type *clé-serrure*.¹⁰ Dans la conception d'un récepteur idéal pour un substrat, le chimiste doit ainsi chercher à obtenir la plus grande complémentarité entre les deux molécules et celle-ci passe par le respect d'un certain nombre de critères.

▪ Un critère stérique

La forme et la taille de la cavité ou du site de complexation de la molécule hôte doivent être adaptées à celles du substrat. Ceci est bien illustré en observant la complexation de différents cations par les éthers couronnes (Figure 3).¹¹

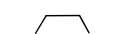
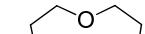
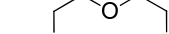
							
12-C-4	15-C-5	18-C-6	Cation	Rayon	12-C-4	15-C-5	18-C-6
			Li ⁺	0,60	<0,5	1,21	<0,5
			Na ⁺	0,95	1,73	3,42	4,32
			K ⁺	1,33	0,86	3,38	6,15

Figure 3 : À gauche : les structures de trois éthers couronnes de tailles différentes. À droite : tableau récapitulant les rayons des cations complexés et les constantes d'association (exprimées en $\log K_a$) pour les différents éthers couronnes.

Les constantes données dans le tableau de la figure 3 montrent que l'éther couronne 12-C-4 est sélectif du cation Na⁺, alors que l'éther couronne 18-C-6 est sélectif du cation K⁺. En revanche, pour l'éther couronne 15-C-5, les constantes d'association des différents cations sont trop proches pour démontrer une réelle sélectivité.

En 1998, l'équipe de J. Rebek propose un critère basé sur des résultats expérimentaux pour rationaliser le rapport optimal de tailles entre un récepteur et un substrat.¹² Ce critère stipule que le rapport des volumes de la cavité de la molécule hôte et de celui de l'invité est optimal pour $0,55 \pm 0,09$. Cette valeur permet un compromis entre les gains enthalpiques réalisés lors de la formation des liaisons non covalentes et la perte entropique correspondant à la perte de liberté de mouvement de la molécule invitée lors du processus de complexation. Bien qu'initialement introduit pour l'étude de la complexation de molécule neutre dans une cavité, ce critère semble pouvoir, dans une certaine mesure, s'appliquer à des substrats chargés. Cette valeur de 0,55 n'est cependant pas absolue et peut varier fortement selon les interactions formées entre le substrat et la molécule hôte. Il est toutefois possible d'utiliser ce critère afin d'obtenir un premier ordre de grandeur des tailles optimales pour la conception d'une molécule hôte, et d'affiner par la suite, en fonction des résultats obtenus.

▪ Des sites d'interaction multiples

Comme évoqué précédemment, les édifices supramoléculaires étant stabilisés par des interactions faibles par rapport à des liaisons covalentes, une plus grande stabilité est obtenue en multipliant le nombre de ces interactions. Une illustration simple de ce principe se retrouve dans la structure des brins d'ADN présentée en figure 2, où l'on peut voir que la stabilisation de l'édifice global est assurée par l'établissement d'un très grand nombre de liaisons hydrogène.

▪ Une complémentarité d'interaction

La sélectivité de complexation est d'autant meilleure que le récepteur présente différents sites d'interaction complémentaires, qui correspondent en nature et en position à ceux du substrat. Cette complémentarité explique par exemple l'encapsulation de zwitterions au sein de certains hémicryptophanes.¹³ L'hémicryptophane représenté en figure 4 comporte à la fois des cycles aromatiques riches en électrons qui peuvent établir des interactions π -cation et un cycle aromatique fortement appauvri qui peut quant à lui établir des interactions π -anion. La présence de ces différents cycles aromatiques permettent d'encapsuler des zwitterions comme la taurine.

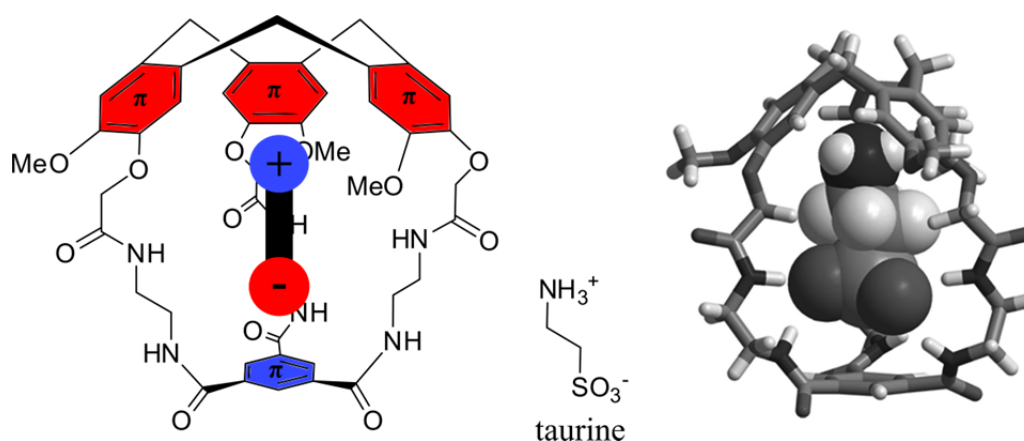


Figure 4 : À gauche : structure d'un complexe entre un hémicryptophane et un zwitterion comme la taurine. L'hémicryptophane présente à la fois des cycles aromatiques riches en électrons qui peuvent effectuer des interactions π -cation et un cycle aromatique appauvri en électrons qui peut faire une interaction π -anion. À droite : la structure minimisée par DFT entre le même hémicryptophane et la molécule de taurine.¹³

La notion de complémentarité est donc essentielle dans la conception d'un récepteur efficace. Cependant, il reste difficile de prévoir complètement les comportements qui seront observés entre les récepteurs et les substrats, et la rationalisation des observations expérimentales est bien souvent amenée *a posteriori*. Il n'est ainsi pas rare que le récepteur qui paraît le plus adapté du point de vue de la complémentarité avec le substrat ne soit pas celui qui donne les meilleures constantes d'association, car il existe d'autres sources de stabilisation. Le modèle « clé-serrure » et les différents critères de complémentarité sont ainsi un bon point de départ dans la conception de récepteurs pour un substrat donné, mais ils ne sont en aucun cas absolus.¹⁴

I.2.b. Pré-organisation du récepteur

Le second point important dans la conception d'un récepteur est la pré-organisation de celui-ci, c'est-à-dire que celui-ci présente, avant toute complexation, une structure proche de celle adoptée une fois complexé au substrat. En effet, tout réarrangement du récepteur pour s'adapter à la forme du substrat représente un coût enthalpique et entropique qui affecte la valeur de la constante d'association. Cette notion est illustrée en figure 5. Elle présente les valeurs des constantes d'association (en $\log K_a$) envers

les cations Li^+ et Na^+ pour deux récepteurs ayant des structures très semblables, mais l'un est linéaire alors que l'autre est cyclique.¹⁵

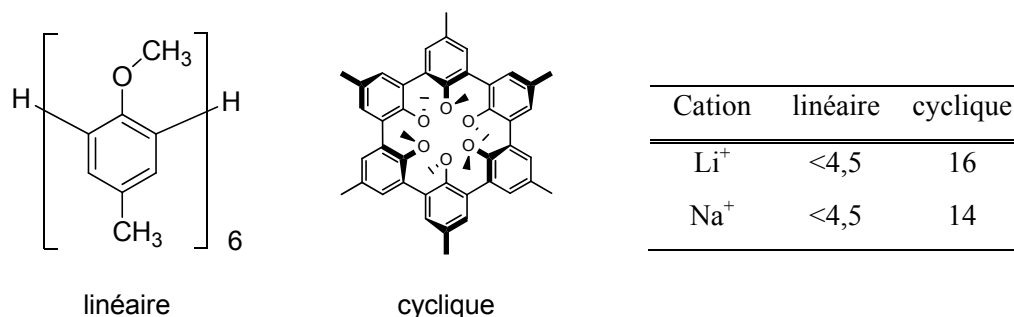


Figure 5 : Valeurs des constantes d'association (exprimée en $\log K_a$) des récepteurs cyclique et linéaire représentés à gauche pour les cations Li^+ et Na^+ .¹⁵

Ces données montrent que la pré-organisation du récepteur cyclique, qui est déjà dans la conformation adoptée lors de la complexation, amène jusqu'à plus de 10 ordres de grandeur de différence pour la constante d'association par rapport au récepteur linéaire non pré-organisé.

I.3. Quelques familles de récepteurs

Les premiers récepteurs développés dans les laboratoires sont ceux de C. J. Pederson, D. J. Cram et J.-M. Lehn, travaux pour lesquels ils ont tous trois reçus le prix Nobel de chimie en 1987 (Figure 6).

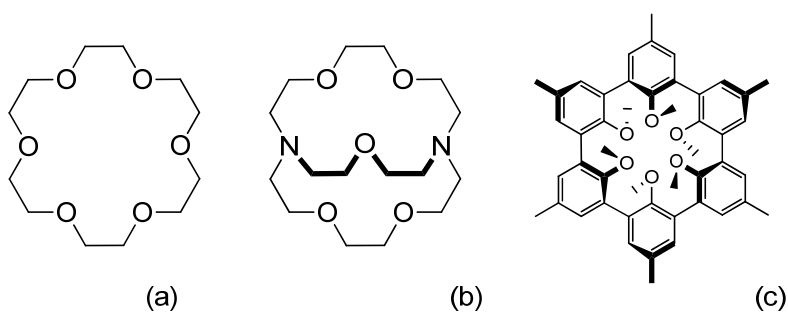


Figure 6 : Premiers récepteurs moléculaires synthétisés : (a) éther couronne 18-O-6⁵ (b) cryptand 2,2,1^{16,17} (c) sphérand.¹⁸

Depuis, de nombreuses familles de récepteurs ont été développées permettant la complexation de substrats de natures diverses (cations, anions, molécules neutres, zwitterions, paires d'ions). Devant la grande diversité de récepteurs développés, nous ne chercherons pas à être exhaustifs, ce qui serait évidemment impossible, mais certaines grandes familles peuvent tout de même être présentées. La figure 7 contient les structures générales de certaines de ces familles comme les β -cyclodextrines,^{19,20} les calixarènes,²¹ les cryptophanes,²² les cavitands²³, les cucurbiturils²⁴ ou encore les hémicryptophanes.²⁵

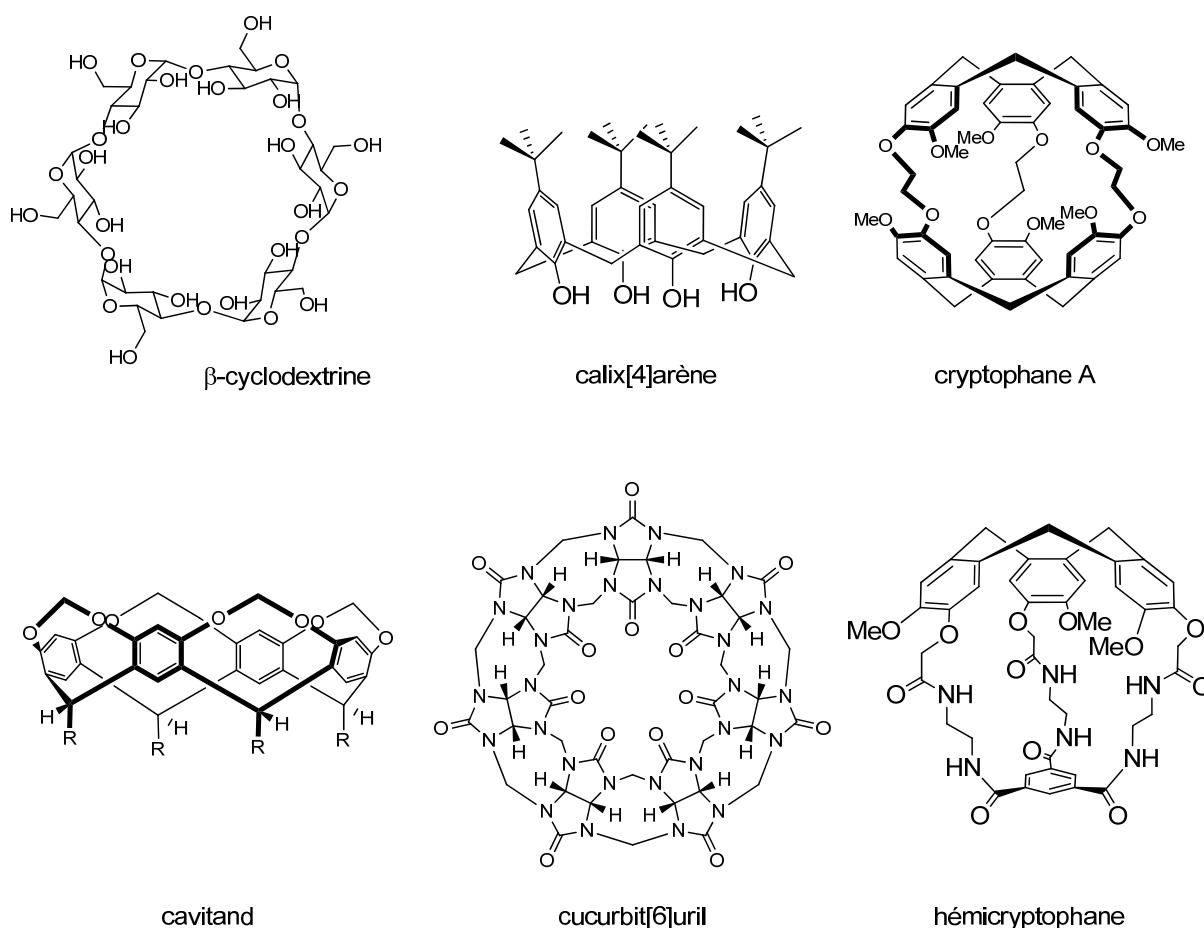


Figure 7 : Structures de quelques familles de récepteurs. Les β -cyclodextrine, les calix[4]arène, les cryptophanes, les cavitands, les cucurbit[6]urils, les hémicryptophanes.

Parmi tous ces récepteurs, se trouvent les molécules de type cryptophane qui font l'objet de ces travaux de thèse. Une présentation générale de leur chimie et de l'état de l'art de leurs applications à l'encapsulation du xénon et des cations métalliques est faite dans la suite de ce chapitre.

II. Les cryptophanes – Présentation générale

II.1. Structure

Les cryptophanes sont une famille d'hémicarcérands développée par André Collet dans les années 1980.²⁶ Ils sont constitués d'un assemblage de deux unités CTB (cyclotrivératribenzylène) reliées entre elles par des chaînes dont la nature et la longueur peuvent être modulées (Figure 8). La nomenclature officielle de ces composés est particulièrement longue et ardue¹, aussi des noms plus simples ont rapidement été adoptés. Les premiers cryptophanes élaborés portent les noms (A, B, C...), cependant,

¹ 3,22-(Epoxyethoxy)-6, 9:25, 28-dietheno-7, 36:17, 26-dimethano-14,18:33,37-dimetheno-18*H*,37*H*-dibenzo[*j*,*a*₁][1,4,18,21]tetraoxacyclotetatriacontin,5,11,12,19,24,30,31,38-octahydro-2,15,21,34,41,49-hexamethoxy

devant la grande diversité de structures pouvant à présent être synthétisées, une nomenclature arbitraire est souvent adoptée pour les nouveaux composés, en précisant le nombre d'atomes de carbone présents sur chaque chaîne pontante et les groupements portés par les aromatiques. Dans cette notation, le cryptophane A devient le cryptophane [222] ou plus précisément [222](OMe)₆ pour indiquer la nature des groupements portés par les cycles aromatiques. Ces molécules présentent une cavité pouvant accueillir des substrats neutres ou chargés, comme nous le montrerons par la suite. Les complexes formés seront alors notés « substrat@cryptophane » pour notifier la présence d'un substrat au sein de la cavité.

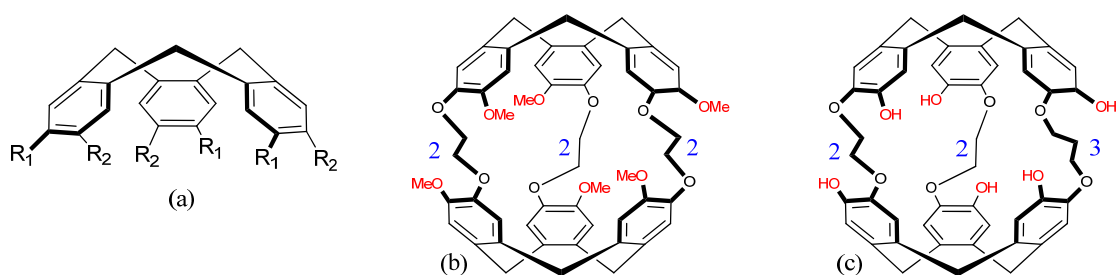


Figure 8 : (a) CTB avec des groupements R₁ et R₂ modulables. (b) Cryptophane A aussi noté [222](OMe)₆. Les chiffres en bleu se rapportent au nombre d'atomes de carbone dans chaque bras pontant. (c) Cryptophane de type [223] comportant six fonctions phénol, noté [223](OH)₆.

II.1.a. Stéréochimie et symétrie

Lorsque les groupements R₁ et R₂ portés par un CTB sont différents, la molécule présente une chiralité planaire et le « chapeau » peut alors adopter une configuration M ou P (Figure 9).

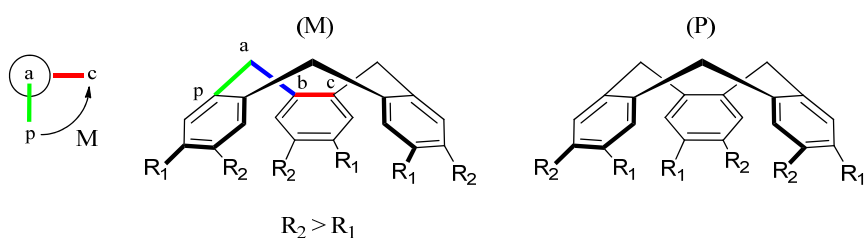


Figure 9 : Les deux énantiomères d'un CTB où le groupement R₂ est prioritaire (selon les règles CIP) par rapport à R₁. Les règles de la chiralité planaire permettent de déterminer les stéréodescripteurs M et P.^{27,28}

La chiralité des unités CTB implique l'existence de plusieurs stéréoisomères pour les cryptophanes selon les configurations relatives des CTB reliés (Figure 10).^{22,29}

Le cryptophane de configuration *syn* est achiral si les groupements R₁ et R₂ sont identiques, mais chiral s'ils sont différents, tandis que les deux cryptophanes *anti* sont chiraux et énantiomères l'un de l'autre, quelle que soit la nature des groupements R₁ et R₂. La nature des connecteurs X et Y et des groupements portés par les CTB joue sur la classe de symétrie à laquelle appartient chaque cryptophane.

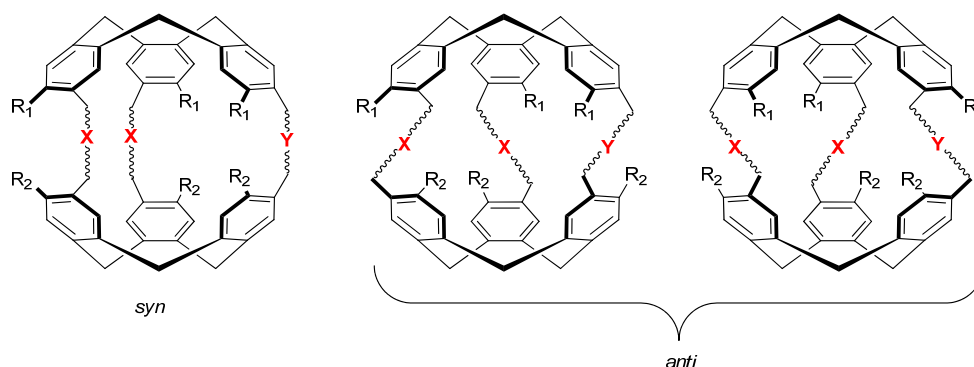


Figure 10 : Configurations *syn* et *anti* des cryptophanes.

Considérons le cas le plus simple où X et Y désignent des chaînes non substituées permettant l'existence d'axe C_2 sur la molécule :

- Si $R_1=R_2$ et $X=Y$, alors le cryptophane *syn* est de symétrie C_{3h} et les composés *anti* sont de symétrie D_3 .
- Si $R_1 \neq R_2$ et $X=Y$, alors les deux configurations *syn* et *anti* sont de symétrie C_3 .
- Si $R_1=R_2$ et $X \neq Y$, alors le cryptophane *syn* est de symétrie C_s tandis que les cryptophanes *anti* sont C_2 .
- Si $R_1 \neq R_2$ et $X \neq Y$, alors les deux configurations *syn* et *anti* sont de symétrie C_1 .

Dans le cas de l'obtention de cryptophanes chiraux, le dédoublement du mélange racémique constitue bien souvent un défi. L'obtention des deux énantiomères d'un cryptophane est parfois nécessaire pour effectuer des complexations énantiosélectives ou encore pour étudier les propriétés chiroptiques du cryptophane en question. Cet aspect de dédoublement n'est pas développé ici mais sera abordé en détail au chapitre 4.

II.1.b. Conformations

Les CTB existent sous plusieurs formes en solution, bien que la forme la plus stable soit, dans la grande majorité des cas, la forme dite cône (« crown »). Il est possible de calculer la barrière d'inversion menant aux conformères « saddle » ou « selle de cheval » et cône inversé (Figure 11). Le passage d'une forme à une autre est relativement peu coûteux en énergie puisque les barrières d'inversion se situent autour de 110 kJ.mol^{-1} .^{30,31}

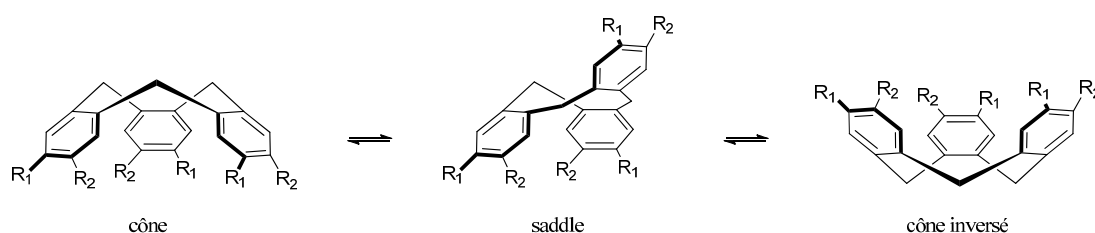


Figure 11 : Conformations du CTB : cône, saddle et cône inversé.

Cette propriété se retrouve dans les cryptophanes qui peuvent également adopter des conformations différentes (Figure 12). La présence ou l'absence de substrat (solvant ou autre molécule) à l'intérieur de la cage joue fortement sur la forme adoptée par le cryptophane. Les formes implosées (in-out) sont ainsi favorisées dans des solvants ne pénétrant pas bien dans la cavité et sont discernables par un nouveau jeu de signaux spécifiques en RMN du proton, différents de ceux de la cage usuelle.³²⁻³⁴ Plus les chaînes pontantes sont longues, plus le cryptophane est « flexible » et peut facilement adopter des conformations de types implosés. Cependant, les cryptophanes [222] peuvent eux aussi s'effondrer dans certaines circonstances.

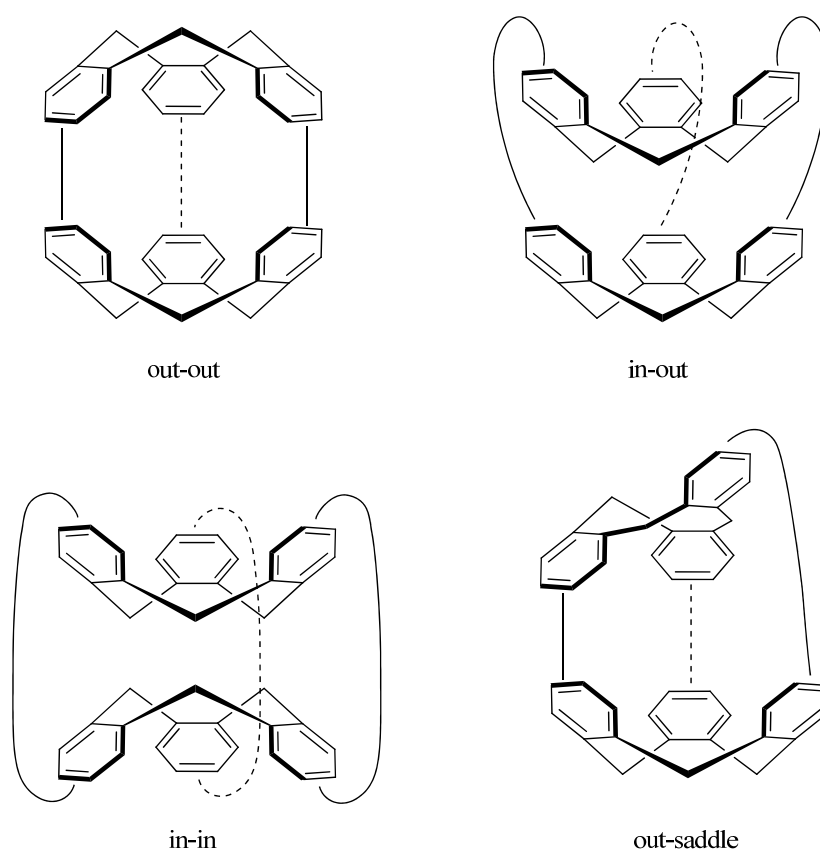


Figure 12 : Conformères des cryptophanes.

II.2. Synthèse

Trois stratégies principales ont été développées pour la synthèse des cryptophanes prenant toutes pour point de départ l'alcool vanillique ou ses dérivés (Figure 13) ; chacune de ces voies présente des avantages et des inconvénients.²²

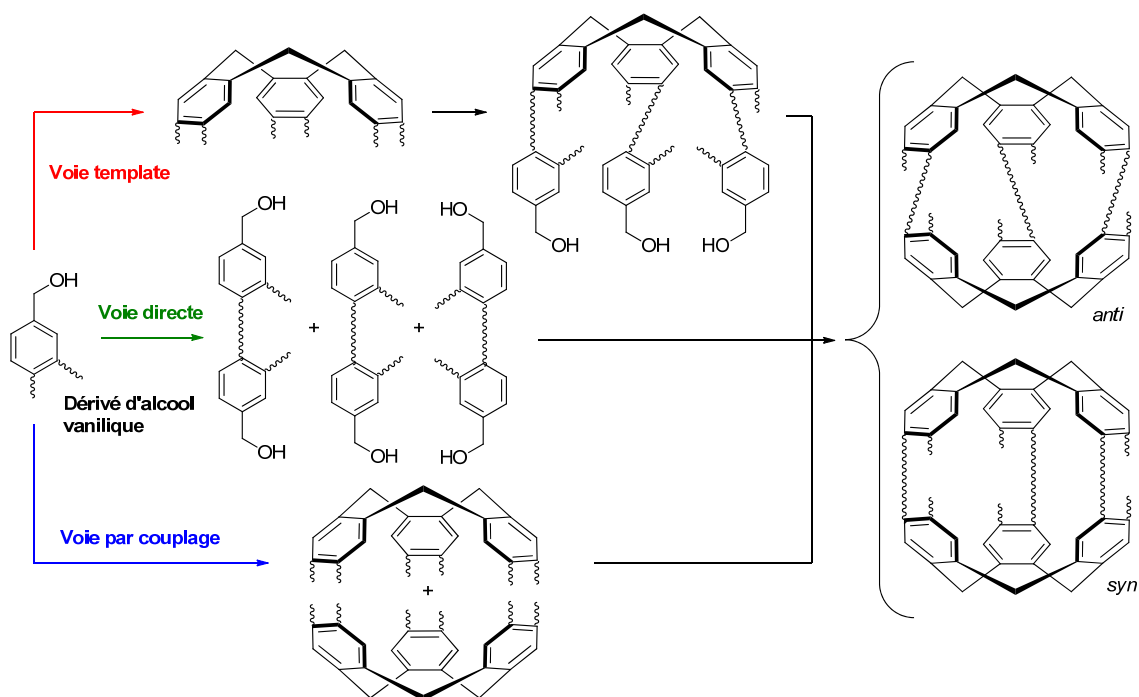


Figure 13 : Principales voies de synthèses des cryptophanes.

II.2.a. Méthode directe

La méthode directe constitue la manière la plus simple et la plus rapide d'aboutir aux cryptophanes de symétrie C_{3h} ou D_3 , mais présente le gros désavantage de mener à des rendements particulièrement faibles (les meilleurs rendements sont autour de 20% pour le cryptophane E ou cryptophane [333](OMe)₆). Cette voie de synthèse passe par la préparation d'un dimère de l'alcool vanillique, puis par la cyclisation directe de ce précurseur par réactions de substitution électrophile aromatique (Figure 14). Dans le cas de la méthode directe, l'étape de cyclisation, qui met en jeu six réactions de type Friedel et Crafts, est contrôlée par la diffusion des trois molécules de précurseur et mène à la formation d'un nombre important de polymères et d'oligomères.

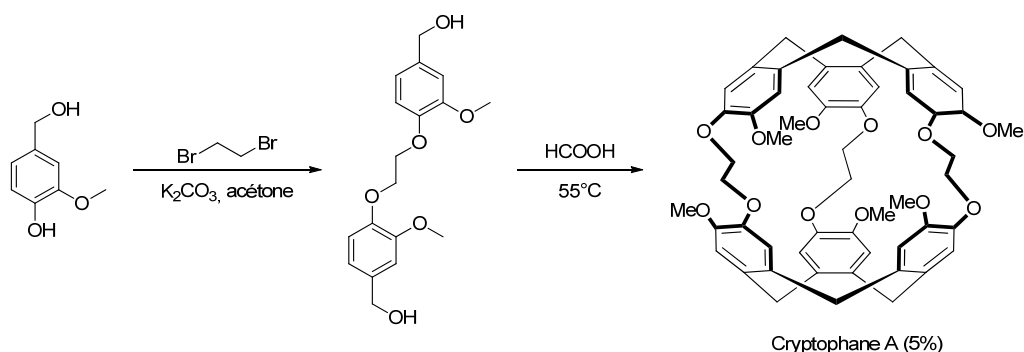


Figure 14 : Synthèse du cryptophane A par voie directe.

La formation de tous ces sous-produits explique l'obtention de faibles rendements pour ce type de synthèse. Une autre limitation pour cette réaction est qu'elle permet uniquement de former des

cryptophanes de symétrie C_{3h} et D_3 . Il est intéressant de noter que la formation simultanée des deux unités CTB favorise l'obtention de cryptophanes *anti*.

II.2.b. Méthode template

Cette méthode est la plus largement utilisée pour la réalisation de cryptophanes de symétrie plus faible (Figure 15).

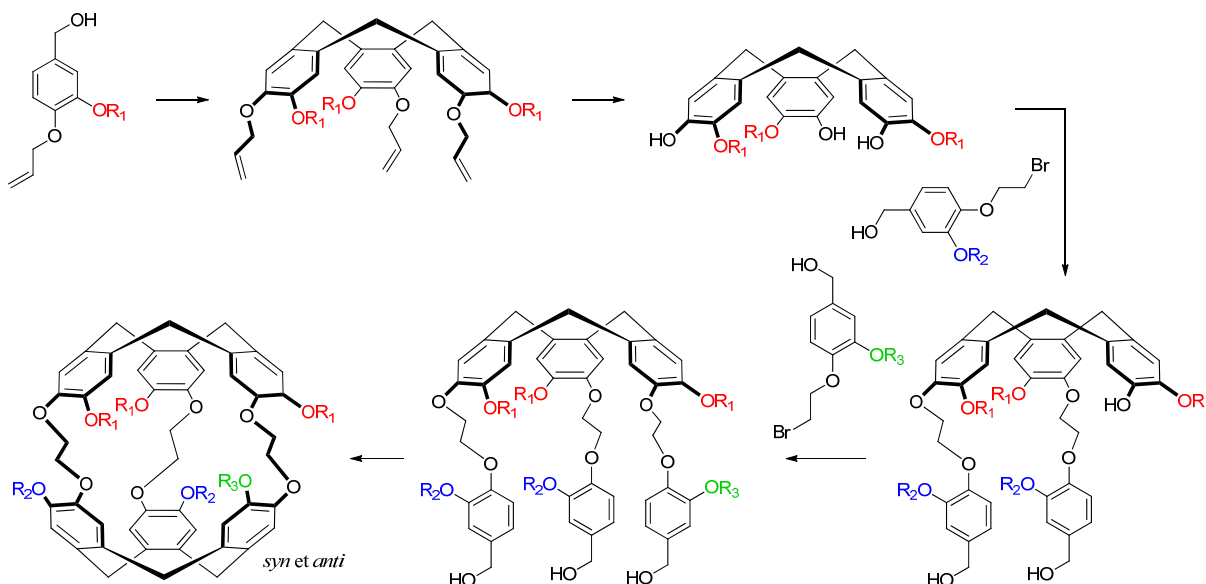


Figure 15 : Méthode template pour l'obtention de cryptophane de symétrie C_1 .

Elle consiste en la cyclisation d'un premier CTB sur lequel sont, par la suite, attachés des précurseurs de cyclisation pouvant différer les uns des autres. La dernière étape est la cyclisation de la deuxième entité CTB. Lors de cette seconde cyclisation, la pré-organisation de la molécule (ou effet template) permet de favoriser la réaction et d'accéder à des rendements supérieurs à ceux de la méthode directe. Par exemple, la seconde cyclisation menant au cryptophane A est obtenue avec un rendement de l'ordre de 80% à partir du précurseur pré-organisé. Cette méthode présente le grand avantage de pouvoir mener à une très large gamme de composés différents.

II.2.c. Méthode de couplage

Cette méthode consiste à assembler deux unités CTB préalablement formées. Elle a été décrite pour la première fois par D. J. Cram pour la synthèse de cryptophanes présentant des groupements acétyléniques dans les chaînes pontantes.³⁵ Cette méthode est relativement directe, mais présente souvent des rendements assez faibles, de par les sous-produits qui peuvent être formés (oligomères, polymères, réaction d'homocouplage...). Plus récemment, cette méthode a été mise en œuvre pour la synthèse de cryptophanes de petites tailles $[111]$ ^{36,37} et $[000]$.³⁸

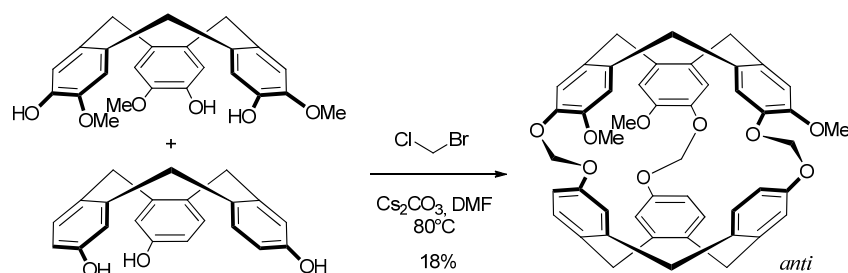


Figure 16 : Synthèse de cryptophane [111] par hétérocouplage de deux CTB.³⁷

Il est également possible d'introduire plusieurs bras de natures différentes par une méthode de couplage mise en point par l'équipe de B. Rousseau (Figure 17).³⁹ Une première étape de couplage vient alors lier les deux unités CTB par un ou deux bras et laisse la possibilité d'introduire une ou deux chaînes pontantes de nature différente dans une étape ultérieure.

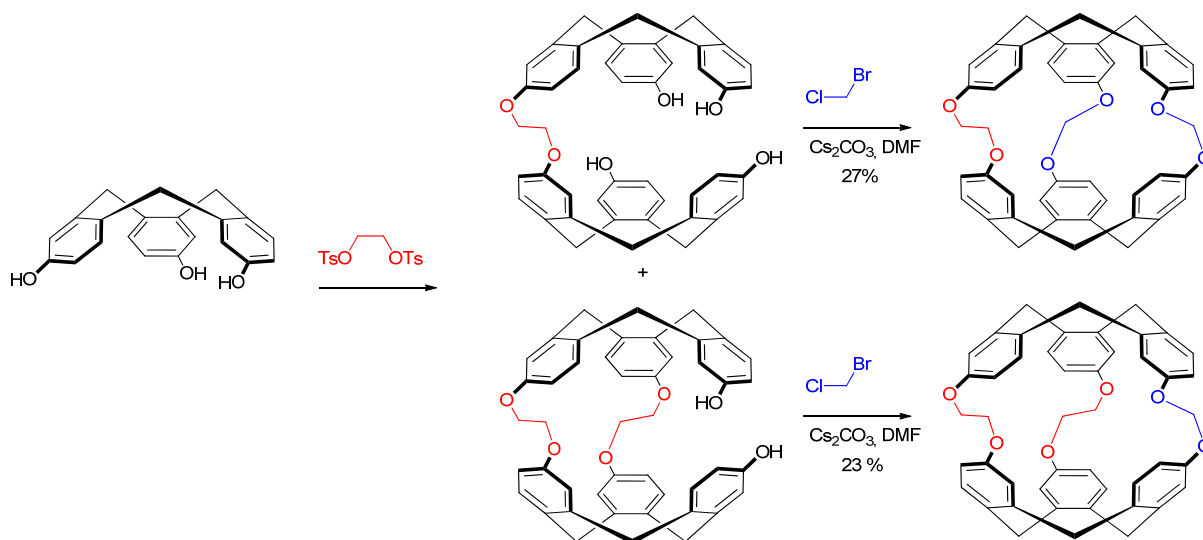


Figure 17 : Synthèse de cryptophanes [112](H)₆ et [122](H)₆ par couplage de deux CTB.³⁹

II.2.d. Stratégies d'hydrosolubilisation des cryptophanes

La chimie des cryptophanes et de leur fonctionnalisation s'est fortement développée depuis les années 80 et permet à présent l'introduction d'un grand nombre de fonctions chimiques de natures différentes, tant sur les positions aromatiques que dans les chaînes pontantes. De par leur structure de base, les cryptophanes sont des molécules hydrophobes, cependant, en vue d'applications en milieu aqueux, des cryptophanes hydrosolubles ont été élaborés.^{34,40-44} La première stratégie mise au point repose sur l'introduction de fonctions acides carboxyliques sur les cycles aromatiques (Figure 18). En partant d'un cryptophane portant des groupements méthoxy sur les aromatiques, l'utilisation d'une base lithiée (PPh_2Li) permet d'obtenir un cryptophane présentant six fonctions phénol. Des réactions de substitution nucléophile avec le bromoacétate de méthyle au niveau de chacun de ces phénols conduisent, par la suite, à un cryptophane portant six fonctions esters, dont l'hydrolyse produit les six fonctions acides carboxyliques recherchées.

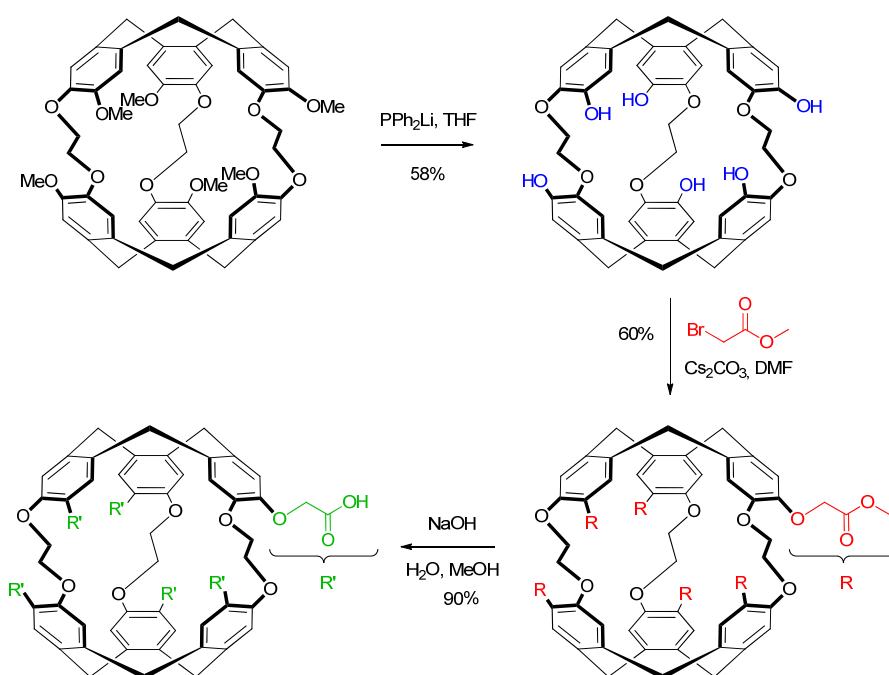


Figure 18 : Hydrosolubilisation du cryptophane A par introduction de six fonctions acide carboxylique.³⁴

Par la suite, d'autres cryptophanes hydrosolubles ont été obtenus grâce à des stratégies variées, comme le montre la figure 19.

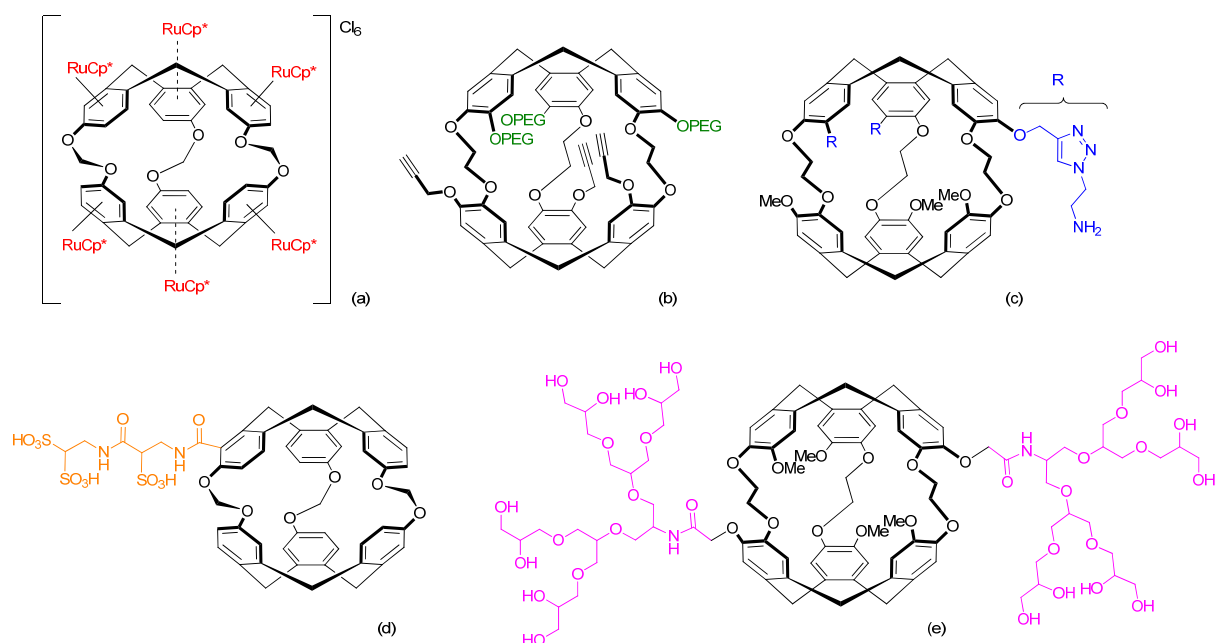


Figure 19 : Différentes structures de cryptophanes hydrosolubles. (a) Cryptophane [111] complexé par des ruthénium.⁴⁰ (b) Cryptophane [222] présentant des chaînes PEG sur l'un des CTB.⁴¹ (c) Cryptophane [222] présentant des tétrazoles. (d) Cryptophane [111] hydrosolubilisé par une chaîne contenant des acides sulfoniques.⁴³ (e) Cryptophane [222] présentant deux dendrimères portant des fonctions alcools.⁴⁴

II.3. Utilisation en reconnaissance moléculaire

Les cryptophanes présentent une cavité qui leur permet d'encapsuler des substrats de natures diverses.

▪ Encapsulation d'entités neutres

Les premières expériences d'encapsulation ont mis en évidence la complexation de petites molécules neutres de forme tétraédrique comme CHCl_3 , CH_2Cl_2 , CH_4 ou CHFCIBr par les cryptophanes A, C et E (la structure de ces cryptophanes est précisée en figure 20).^{22,45,46} Par la suite, la gamme de petites molécules complexées s'est étendue, incluant des alcanes,⁴⁷ des radicaux,⁴⁸ ou encore des composés organométalliques.⁴⁹

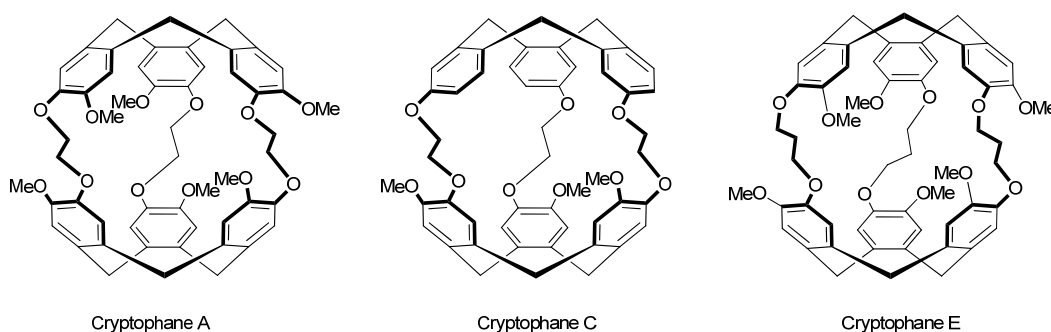
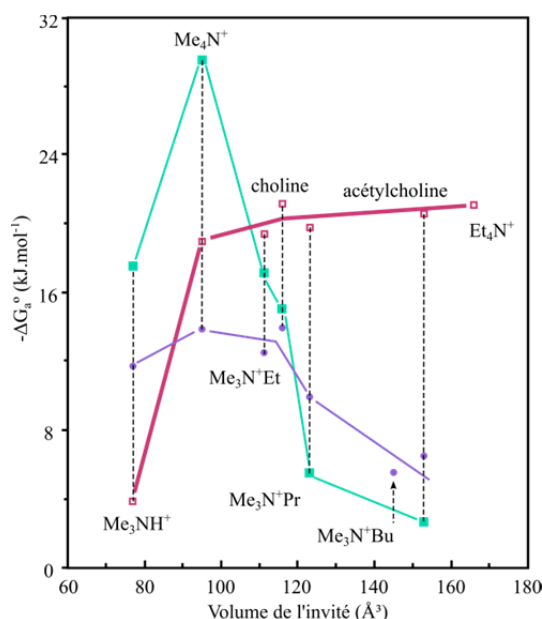


Figure 20 : Structure des cryptophanes A, C et E.

Il convient de mentionner également ici la complexation du xénon par les cryptophanes.⁵⁰ Cette propriété d'encapsulation a ouvert la porte à l'un des grands champs d'application des cryptophanes, à savoir l'utilisation des cryptophanes comme plateforme moléculaire pour la mise au point de biosondes pour l'IRM du xénon 129 hyperpolarisé. Ce champ d'étude et les propriétés comparées d'encapsulation du xénon seront traités en détail dans la suite de ce chapitre.

▪ Encapsulation de cations

La cavité des cryptophanes convient à l'encapsulation de cations organiques comme les ammoniums. Le cryptophane E permet, par exemple, la complexation du tétraméthylammonium avec une constante d'association particulièrement grande de $475\,000\text{ M}^{-1}$ (Figure 21).⁵¹ D'autres ammoniums comme la choline ou l'acétylcholine sont complexés par des dérivés hexa-acides carboxyliques des cryptophanes E et O.



R	OMe	OCH ₂ COOH
n=3	Hôte a) (Cryptophane E)	Hôte b)
n=5	Cryptophane O	Hôte c)

Figure 21 : À gauche : diagramme indiquant les enthalpies libres d'associations de différents cryptophanes pour un ensemble d'ammoniums. À droite : structures des cryptophanes mis en jeu dérivés des cryptophanes E et O.⁵¹

Plus récemment, il a été montré que certains cryptophanes possédant des fonctions phénol étaient capables d'encapsuler des cations métalliques comme K^+ , Cs^+ , Rb^+ , Tl^+ .⁵² Ce sujet sera abordé plus en détail par la suite.

▪ Encapsulation d'anions

Les cycles aromatiques présents sur les CTB étant très riches en électrons, les cryptophanes ne sont *a priori* pas les meilleurs hôtes pour les molécules anioniques. Cependant, le cryptophane présentant des groupements $[\text{Cp}^*\text{Ru}]$ développé par le groupe de T. Holman (Figure 19a) présente des propriétés de complexation envers des anions comme CF_3SO_3^- ou SbF_6^- .⁵³

▪ Encapsulation énantiosélective

Le caractère chiral des cryptophanes leur confère des capacités d'encapsulation sélective envers deux énantiomères d'un même couple. Cette propriété a d'abord été mise en évidence avec l'encapsulation du CHFCIBr chiral,⁵⁴ ce qui était d'ailleurs l'un des buts premiers de la synthèse des cryptophanes. Par la suite, un autre halogénométhane chiral CHFCII a lui aussi été complexé de manière énantiosélective dans un cryptophane partiellement dédoublé.⁵⁵ Plus récemment, l'énantiosélectivité de l'encapsulation par le cryptophane énantio pur $[\text{222}](\text{OH})_5$ a été illustrée en utilisant l'oxyde de propylène comme substrat chiral (Figure 22).⁵⁶

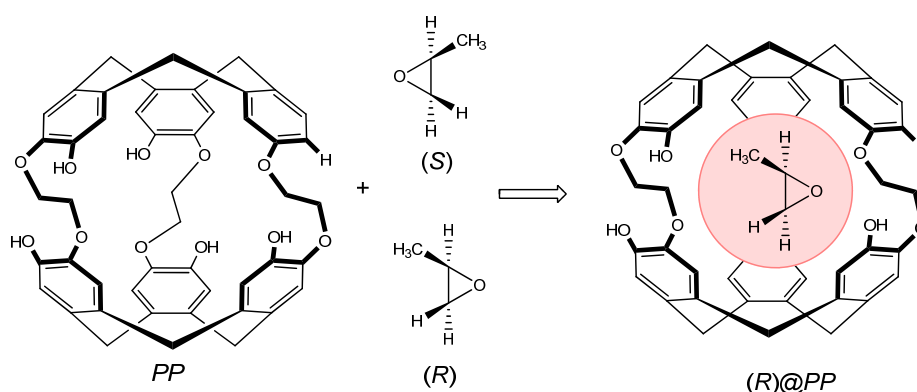


Figure 22 : Complexation énantiosélective d'un des énantiomères de l'oxyde de propylène par le cryptophane [222](OH)₅ énantipur de configuration *PP*.⁵⁶

Toutes ces propriétés de complexation font des cryptophanes de bons candidats pour des applications dans des domaines très variés. Leurs propriétés de complexation vis-à-vis du xénon et la possibilité de les rendre hydrosolubles ouvrent, en particulier, la porte à des applications dans le domaine médical. En effet, comme nous allons l'aborder dans la partie suivante, il est possible d'utiliser les cryptophanes pour créer des biosondes pour l'imagerie du xénon hyperpolarisé.

III. Biosondes pour l'IRM du xénon 129 hyperpolarisé

III.1. Présentation de l'IRM

L'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) est une technique voisine de la RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) qui étudie la réponse de noyaux de moments magnétiques non nuls à l'application d'un champ magnétique. Alors que la RMN renvoie comme information la fréquence de résonance du type de noyaux sondés qui sont présents dans l'échantillon, l'application de séquences bien spécifiques de gradients de champs permet à l'IRM de renvoyer une image à deux ou trois dimensions de l'échantillon représentant la densité de noyaux résonant à une fréquence sélectionnée.

Cette technique s'est très fortement développée depuis son apparition dans les années 70, devenant un examen médical classique, avec plus de 100 millions d'IRM réalisés par an à travers le monde. L'examen classique d'IRM permet de détecter les protons des molécules d'eau. Le corps humain étant constitué à 75% d'eau, cette technique est bien adaptée à l'obtention d'images pour des applications médicales. L'IRM présente l'avantage d'être non invasive, sans effets secondaires connus à ce jour, et permet l'obtention d'images avec une résolution sous-millimétrique.

▪ Le signal RMN et IRM

Sous l'effet d'un champ magnétique B_0 , les moments magnétiques des noyaux de spin $\frac{1}{2}$, comme le ^1H ou le ^{129}Xe , s'orientent parallèlement ou antiparallèlement à ce dernier. Apparaissent alors deux états

Chapitre 1: Bibliographie

de spin (états α et β) d'énergies différentes (effet Zeeman). La différence d'énergie entre ces deux états s'exprime en fonction du champ B_0 et du rapport gyromagnétique du noyau considéré (Figure 23).

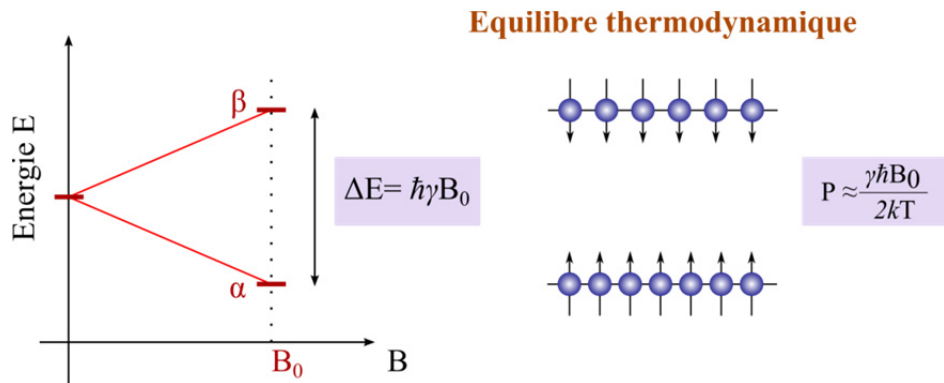


Figure 23 : Niveaux d'énergie d'un noyau de spin nucléaire $\frac{1}{2}$ dans un champ magnétique et polarisation magnétique P en résultant.

La population des deux niveaux d'énergie peut être décrite par une statistique de Boltzman. En notant N_α et N_β les populations des états respectifs α et β , γ le rapport gyromagnétique du noyau considéré, \hbar la constante réduite de Planck, k la constante de Boltzman et T la température du système, le rapport de ces deux populations est alors exprimé par la relation suivante :

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = e\left(-\frac{\Delta E}{kT}\right) = e\left(-\frac{\gamma\hbar B_0}{kT}\right)$$

L'intensité du signal RMN ou IRM dérive directement d'une grandeur P appelée polarisation qui caractérise la répartition entre les deux niveaux α et β . Cette dernière est définie comme le rapport entre la valeur absolue de la différence et la somme des populations des états α et β et s'exprime en fonctions des paramètres précédemment introduits.

$$P = \frac{|N_\alpha - N_\beta|}{N_\alpha + N_\beta} = \tanh \frac{\gamma\hbar B_0}{2kT} \approx \frac{\gamma\hbar B_0}{2kT}$$

Il est possible d'évaluer la valeur de cette grandeur dans les conditions usuelles d'une expérience d'IRM ou de RMN. En considérant, par exemple, un champ magnétique de 1,5 T (champ classique pour un appareil d'IRM) et un échantillon à la température corporelle, la polarisation observée n'est que de 5.10^{-6} pour le proton.⁵⁷ On voit alors apparaître ici une des raisons de la faible sensibilité des techniques de résonance magnétique. Au vu de l'équation décrivant la polarisation, deux solutions paraissent alors possibles pour remédier à ce problème :

- l'augmentation de la valeur du champ B_0 appliqué. Cette stratégie va de pair avec le développement d'appareils de plus en plus puissants mais est très coûteuse.

- la diminution de la température. Cette stratégie, en plus d'être contraignante, est vite limitée par la nature des échantillons, en particulier biologiques.

Ces deux premières solutions n'étant pas adaptées aux utilisations médicales, il est nécessaire d'envisager d'autres méthodes permettant d'accroître la valeur de la polarisation. Pour cela il est possible de faire appel à des espèces pouvant être *hyperpolarisées*, c'est-à-dire placées dans un état tel que leur polarisation est très fortement augmentée par rapport à l'équilibre thermodynamique. Des noyaux tels que le ^3He , le ^{13}C ou encore le ^{129}Xe répondent à ces conditions en permettant des gains de trois à cinq ordres de grandeur en polarisation, ce qui permet dans le même temps de compenser leur faible abondance dans le corps humain.⁵⁸ Ces techniques ne sont cependant pas triviales et nécessitent des compétences et un appareillage spécifiques.

III.2. Hyperpolarisation

L'hyperpolarisation décrit un état hors équilibre dans lequel le rapport de populations des états de spin est fortement augmenté par rapport à l'équilibre thermodynamique (Figure 24).

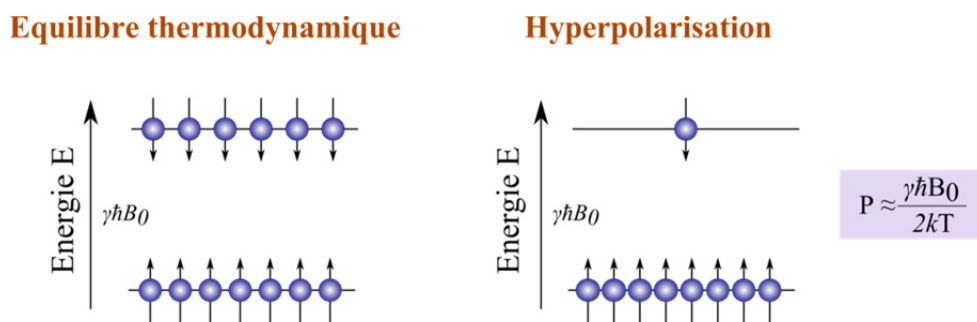


Figure 24 : Hyperpolarisation d'un noyau de spin nucléaire 1/2.⁵⁹

Cet état peut être atteint par plusieurs méthodes de préparation de l'échantillon, le cas du pompage optique utilisé pour les noyaux d'hélium ou de xénon sera abordé par la suite.

L'hyperpolarisation étant un état hors équilibre, il n'est, par définition, pas stable. Le retour à l'équilibre thermodynamique se fait sur un temps caractéristique assimilable au temps de relaxation longitudinal T_1 du noyau utilisé. Pour bénéficier du gain de sensibilité dû à l'hyperpolarisation, il faut donc que les acquisitions RMN ou IRM soient réalisées dans des temps courts par rapport à la perte de polarisation de l'échantillon. De la même manière, une fois hyperpolarisées, les espèces ne peuvent pas être stockées sur des temps très longs, et les appareillages permettant la préparation de l'échantillon doivent donc se trouver à portée des lieux d'analyse RMN ou IRM.

Les gains de polarisation étant très importants, l'enregistrement d'une expérience RMN avec des noyaux hyperpolarisés bénéficie d'un énorme gain de sensibilité. La figure 25 montre par exemple une comparaison de deux expériences de RMN du ^{129}Xe : l'une enregistrée en 15 heures à l'équilibre

thermodynamique montre un signal bruité, alors que la seconde expérience, enregistrée en 1 seconde avec du xénon hyperpolarisé, montre un signal présentant un excellent rapport signal sur bruit.⁵⁹

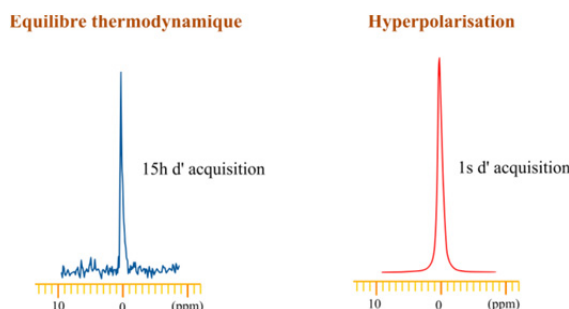


Figure 25 : Comparaison de deux expériences de RMN du ^{129}Xe . En bleu, une acquisition de 15 heures dans les conditions d'équilibre thermodynamique. En rouge, une acquisition d'une seconde avec du xénon hyperpolarisé.⁵⁹

III.3. ^3He hyperpolarisé

L'atome de ^3He hyperpolarisé est principalement utilisé pour l'imagerie des poumons. La première image des poumons avec un gaz hyperpolarisé a été obtenue avec le ^{129}Xe ,⁶⁰ mais l'hélium l'a rapidement supplanté pour cette technique, bénéficiant d'un rapport gyromagnétique plus important et d'un meilleur rendement d'hyperpolarisation.⁶¹ Ainsi, à l'heure actuelle, la quasi-totalité des images de poumons humains sont obtenues avec le ^3He . Cependant, les équipes reviennent progressivement vers un remplacement de l'hélium par le xénon. En effet, malgré les avantages cités, l'hélium souffre de sa rareté et de son coût. Cet isotope étant isolé de la désintégration du tritium provenant des armements nucléaires, il est peu abondant et les cours du prix de cet atome sont très instables. De plus, contrairement au ^{129}Xe , le ^3He est pratiquement insoluble dans les milieux biologiques, ce qui limite drastiquement son utilisation.

III.4. ^{13}C hyperpolarisé

Un des grands avantages à l'utilisation du ^{13}C est qu'il est déjà présent en faible quantité dans de nombreux métabolites au sein des organismes animaux et humains. L'étude de cet isotope est très rapidement apparue comme prometteuse. En effet, en suivant par IRM l'évolution de métabolites marqués au ^{13}C au cours de leurs transformations à travers des réactions catalysées par des enzymes spécifiques, de précieuses informations peuvent être obtenues sur certains métabolismes.⁶² L'apport de la technique d'hyperpolarisation permet ici, encore une fois, de compenser la faible abondance de l'isotope étudié. L'hyperpolarisation des noyaux de ^{13}C est généralement réalisée par polarisation nucléaire dynamique (DNP), c'est-à-dire par un transfert de polarisation de l'électron non apparié d'une espèce radicalaire vers le noyau ^{13}C sous l'effet d'une irradiation micro-ondes.⁶³ En pratique, des métabolites contenant du ^{13}C hyperpolarisé sont préparés puis injectés au patient et leur devenir est suivi par imagerie.⁶⁴ Le $[1-^{13}\text{C}]$ pyruvate est particulièrement intéressant car il intervient dans un métabolisme connu pour être modifié dans les cellules cancéreuses (Figure 26 encart A). Après son

injection au patient, le $[1-^{13}\text{C}]$ pyruvate est transformé par le métabolisme présenté en sous-produits contenant à leur tour du ^{13}C hyperpolarisé pouvant être détectés par imagerie ou RMN. La mesure des rapports de chacun des métabolites hyperpolarisés, obtenus à partir de spectres RMN présentant les signaux de chacune des espèces concernées (Figure 26), permet alors aux oncologistes de savoir si une tumeur répond au traitement quelques heures seulement après l'administration de celui-ci.⁶⁵

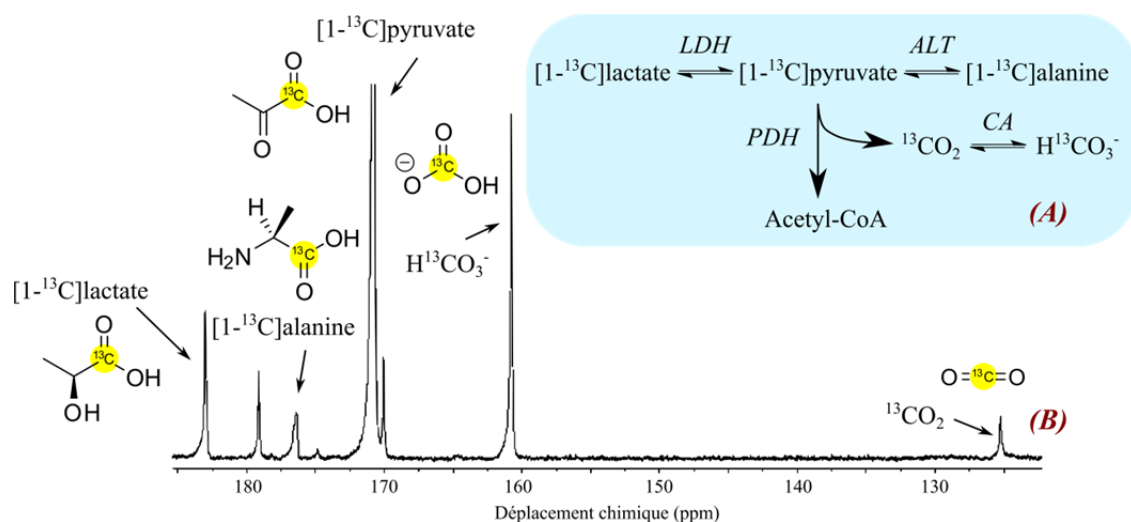


Figure 26 : (A) Diagramme du métabolisme du pyruvate décrivant sa transformation par les enzymes *LDH*, *ALT* et *PDH* pour donner respectivement comme produit le lactate, l'alanine et le CO_2 . Ce dernier est par la suite transformé en hydrogénocarbonate par l'anhydrase carbonique (*CA*). (B) Spectre RMN ^{13}C enregistré en 1 scan à partir d'un cœur de rat dans lequel a été injecté du $[1-^{13}\text{C}]$ pyruvate hyperpolarisé. On peut identifier sur ce spectre tous les produits issus du métabolisme présenté.^{62,64}

Par ailleurs, la mesure du rapport de concentration entre le $^{13}\text{CO}_2$ et le $\text{H}^{13}\text{CO}_3^-$ permet l'accès à une mesure de pH extracellulaire. Ceci est particulièrement intéressant pour localiser certaines tumeurs, comme les tumeurs lymphatiques, au sein desquelles le pH est plus acide que celui des tissus environnants.⁶² Ces études ont pu être menées *in vitro* et *in vivo*, principalement sur des animaux jusqu'à présent, mais les études cliniques sur des patients humains ont été autorisées ces dernières années dans le cadre de l'étude du cancer de la prostate et n'ont montré aucun problème de toxicité particulier.^{66,67} L'accent est maintenant porté sur le développement technique des outils d'hyperpolarisation pour obtenir des coûts de revient moindres pour ce type d'examen médical.

III.5. ^{129}Xe hyperpolarisé

Le Xe est un gaz noble, inerte, peu cher et relativement abondant. Il est présent sous forme de deux isotopes majoritaires actifs en RMN, le ^{129}Xe (26,4%, spin 1/2) et le ^{131}Xe (21,2% spin 3/2). Le choix de l'isotope pour l'imagerie se porte sur le ^{129}Xe qui, en plus d'être plus abondant, fournit des signaux plus simples en RMN et possède un temps de relaxation longitudinal (T_1) plus grand. Les avantages de ce gaz pour l'imagerie médicale sont multiples et les caractéristiques de son utilisation sont détaillées par la suite.

III.5.a. Une compatibilité biologique

Le xénon ne présente pas de toxicité pour l'organisme. Dans le corps humain, il interagit avec les récepteurs glutamatargiques N-méthyl-D-aspartate (NMDA)⁶⁸, ce qui fait de lui un anesthésiant au-delà de certaines concentrations. Cependant, en deçà de celles-ci, seuls de légers vertiges et des états euphoriques sont rapportés.⁶⁹ Comme mentionné plus tôt, le xénon présente de bien meilleures propriétés de solubilité dans les milieux biologiques que l'hélium, ce qui permet, par exemple, d'obtenir des images du cerveau par diffusion du gaz à partir des poumons, lorsque le gaz est inhalé par le patient.

III.5.b. Une grande sensibilité à son environnement chimique

Le xénon présente un nuage électronique hautement polarisable ce qui le rend très sensible à son environnement chimique. Cela se traduit par une très large gamme de déplacements chimiques accessibles aux différents noyaux de xénon, selon les interactions non covalentes que ces derniers établissent avec leur environnement. Les déplacements chimiques du ^{129}Xe s'échelonnent ainsi sur plus de 200 ppm (Figure 27).⁷⁰⁻⁷²

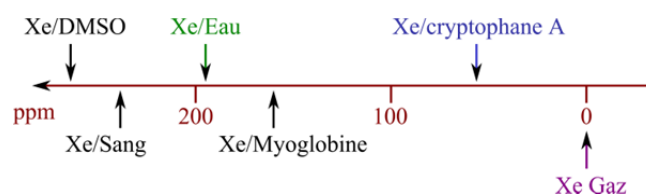


Figure 27 : Échelles de certains déplacements chimiques du xénon.

Cette propriété, associée au fait que le xénon est très vite absorbé par les tissus, permet d'obtenir de manière très rapide des signaux correspondant au xénon dans les différentes zones qu'il a atteintes juste après son administration. La figure 28 montre, par exemple, le spectre RMN du cerveau d'un sujet humain en bonne santé obtenu juste après qu'il a inhalé du ^{129}Xe hyperpolarisé. Une image peut ensuite être obtenue en sélectionnant, par exemple, la fréquence correspondant au xénon dans les globules rouges (Figure 28 B).⁶³

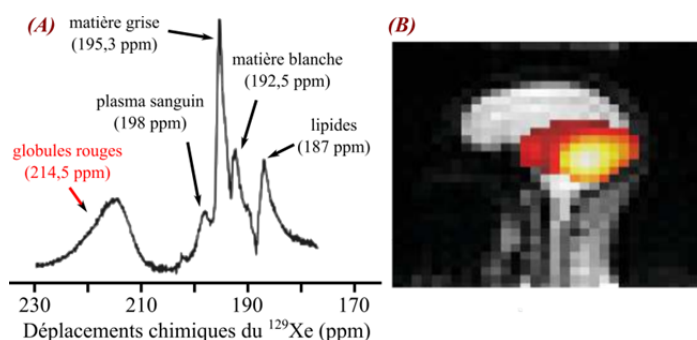


Figure 28 : (A) : Spectre RMN du cerveau d'un sujet humain en bonne santé ayant inhalé du xénon hyperpolarisé. (B) : Image obtenue du même sujet en sélectionnant la fréquence correspondant au ^{129}Xe dans les globules rouges.⁶³

III.5.c. Une utilisation *in vivo*

L'utilisation *in vivo* du xénon hyperpolarisé est rendue possible à la fois par son absence de toxicité et par des voies d'administration peu invasives. La méthode la plus simple reste l'inhalation directe du gaz, elle permet d'obtenir des images des poumons et de tissus environnants ou encore du cerveau, le xénon n'ayant besoin que de quelques secondes pour atteindre le cerveau une fois inhalé. Il est également possible d'injecter le xénon en solution dans des milieux biologiques directement dans le système sanguin.^{73,74} Quelle que soit la méthode d'administration, l'étude de la zone d'intérêt est facilitée par le fait que le xénon n'est pas initialement présent dans les organismes. Il n'y a donc pas de superpositions avec des signaux d'espèces endogènes. De nombreuses expériences *in vivo* ont été réalisées à ce jour, à la fois chez les petits animaux comme la souris ou le rat (poumons,⁷⁵ cerveau,⁷⁶ tissus⁷⁷) et chez les humains (poumons,^{69,78,79} cerveau⁷⁹).

III.5.d. Une fonctionnalisation possible

La bonne solubilité du xénon dans les tissus biologiques est un avantage pour les différentes techniques présentées jusque-là, mais elle rend impossible le contrôle précis de la zone où le xénon se retrouve une fois introduit dans l'organisme. En vue d'établir des diagnostics plus élaborés, il devient nécessaire de cibler certaines zones ou récepteurs biologiques spécifiques. Pour cela, il est possible de profiter de l'affinité du xénon pour certaines structures macromoléculaires et d'utiliser ces dernières comme vaisseau pour transporter le xénon à l'endroit désiré. Les systèmes supramoléculaires peuvent être modifiés et fonctionnalisés pour créer des biosondes pour l'imagerie au ^{129}Xe hyperpolarisé. Lors de la conception de ces biosondes, un cahier des charges doit cependant être respecté afin d'optimiser les signaux générés.⁵⁸

- (1) Il faut des constantes d'association importantes entre la molécule hôte et le xénon.
- (2) L'échange *in-out* du xénon (c'est-à-dire la dynamique d'entrée et de sortie du xénon de la structure macromoléculaire) doit être à la fois suffisamment rapide pour permettre un ravitaillement de la molécule hôte en xénon hyperpolarisé et lent sur l'échelle de temps de la RMN du xénon pour permettre l'obtention de deux signaux distincts pour le xénon encapsulé et le xénon libre en solution. La détection est facilitée s'il y a une grande différence de déplacement chimique entre ces deux signaux.
- (3) L'encapsulation doit limiter tant que possible la relaxation de l'espèce hyperpolarisée. En d'autres termes, il faut que les temps de relaxation caractéristiques du xénon encapsulé restent les plus grands possibles.
- (4) Il faut avoir des déplacements chimiques différents pour le xénon encapsulé lorsque la molécule hôte est libre et lorsqu'elle est liée au récepteur ciblé.
- (5) La biosonde doit avoir une bonne solubilité en solution aqueuse et une unité de reconnaissance efficace envers le récepteur ciblé.

III.5.e. L'hypermolarisation par pompage optique

Il existe plusieurs techniques d'hypermolarisation, cependant celle qui est préférée pour les gaz comme le xénon ou l'hélium est celle du pompage optique par un laser aussi appelée SEOP pour « spin exchange optical pumping ». Cette technique se décompose en deux étapes successives : le pompage optique menant à la polarisation des spins électroniques d'un métal alcalin vaporisé à haute température, le rubidium étant le plus utilisé, et le transfert de cette polarisation aux spins nucléaires du xénon par échange de spin en présence d'un gaz inerte comme le diazote.

▪ Première étape : hypermolarisation électronique du rubidium

Pour comprendre la polarisation des spins électroniques du rubidium par un laser, il faut s'intéresser aux niveaux électroniques de ce métal alcalin de configuration $[\text{Kr}]5s^1$. L'état fondamental du rubidium est un état $^2S_{1/2}$ qui est composé de deux sous-états magnétiques dégénérés ($m_J = \pm \frac{1}{2}$) (Figure 29). L'irradiation de cet atome par un rayonnement laser de longueur d'onde 794,7 nm (correspondant à la raie spectrale D_1 du rubidium) mène à l'état excité $^2P_{1/2}$, lui-même composé de deux sous-états magnétiques dégénérés ($m_J = \pm \frac{1}{2}$). L'expérience est réalisée en présence d'un faible champ magnétique qui a pour effet de lever les dégénérescences des niveaux magnétiques de l'état fondamental et de l'état excité. Plusieurs transitions paraissent alors possibles lors de l'irradiation du rubidium. Cependant, les règles de sélections régissant ce type de transition permettent de trancher parmi toutes les candidates, si bien qu'une seule transition reste autorisée. La règle de sélection pour une transition électronique mentionne, en effet, que celle-ci doit respecter :

- $\Delta l = \pm 1$ (c'est bien le cas ici, la transition va de S ($l = 0$) à P ($l = 1$)) ;
- $\Delta m_J = 0, \pm 1$.

De plus, la radiation laser utilisée étant polarisée circulairement (considérons, par exemple, une polarisation circulaire gauche notée σ^+), la conservation du moment angulaire des photons absorbés impose une transition électronique pour laquelle $\Delta m_J = +1$. La seule transition électronique autorisée est alors celle entre les états $^2S_{1/2} (m_J = -\frac{1}{2})$ et $^2P_{1/2} (m_J = +\frac{1}{2})$.

Une fois le niveau $^2P_{1/2} (m_J = +\frac{1}{2})$ peuplé, des collisions entre atomes gazeux provoquent une équilibration des populations entre les états $^2P_{1/2} (m_J = +\frac{1}{2})$ et $^2P_{1/2} (m_J = -\frac{1}{2})$, puis, ces deux niveaux se dés excitent de manière non radiative et équiprobable vers les états fondamentaux $^2S_{1/2} (m_J = -\frac{1}{2})$ et $^2S_{1/2} (m_J = +\frac{1}{2})$.

Il résulte de ces considérations que le niveau $^2S_{1/2} (m_J = +\frac{1}{2})$, qui n'est pas dépeuplé par l'excitation laser (de par les règles de sélections mentionnées), est en revanche, petit à petit, peuplé par les

désexcitations des états $^2P_{1/2}$. Une polarisation apparaît ainsi progressivement entre les niveaux $^2S_{1/2}$ ($m_J = -\frac{1}{2}$) et $^2S_{1/2}$ ($m_J = +\frac{1}{2}$).

Il est à noter que, pour éviter les désexcitations radiatives qui pourraient avoir lieu à partir des états $^2P_{1/2}$ et qui risqueraient de détruire une partie de la polarisation acquise, du diazote est inséré dans la cellule pour quencher la fluorescence du rubidium par chocs dissipatifs.

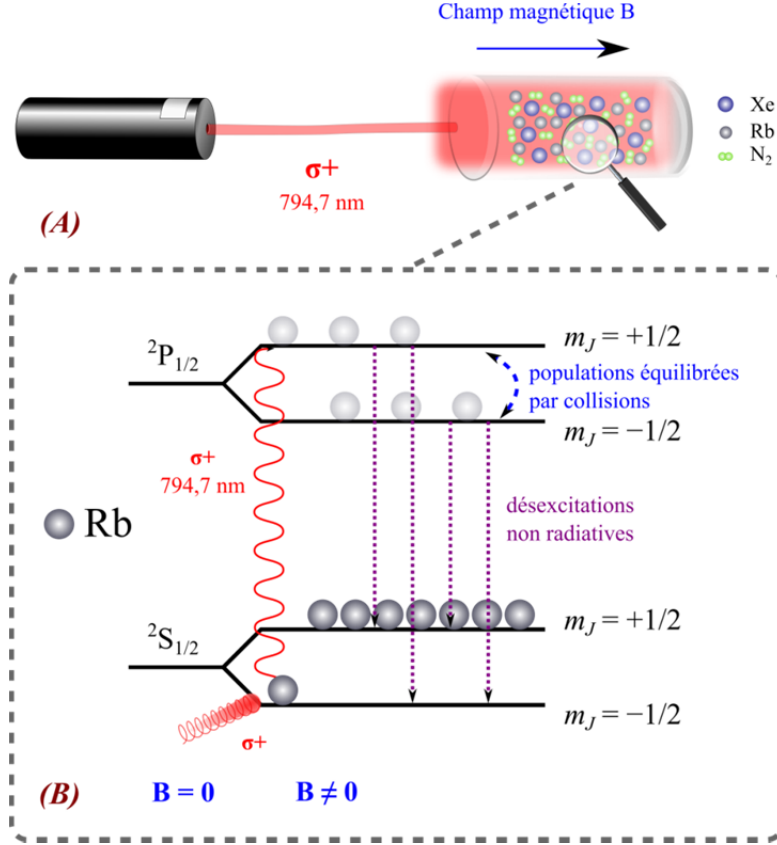


Figure 29 : Polarisation des spins électroniques du rubidium. Le mélange des trois gaz est placé dans une cuve où règne un champ magnétique B_0 , et est irradié par un laser à la longueur d'onde $\lambda = 794,1$ nm. La lumière polarisée circulairement σ^+ induit une transition électronique de l'état $^2S_{1/2}$ ($m_J = -\frac{1}{2}$) à l'état $^2P_{1/2}$ ($m_J = +\frac{1}{2}$). Une série de collision entre espèces gazeuses permet ensuite une équilibration des populations des deux états $^2P_{1/2}$ qui se désexcitent de manière non radiative et équiprobable vers les deux états $^2S_{1/2}$. L'accumulation d'atomes de rubidium dans le niveau $^2S_{1/2}$ ($m_J = +\frac{1}{2}$) induit une polarisation des spins électroniques.

▪ Deuxième étape : transfert de polarisation vers les noyaux du ^{129}Xe

Une fois le rubidium polarisé, il peut transmettre cette polarisation de spin électronique au spin nucléaire du xénon à travers des collisions (Figure 30). Deux types de collisions sont envisagés : l'une, à trois corps, implique une molécule de diazote et est plus efficace, alors que l'autre est une collision à deux corps entre un atome de xénon et un atome de rubidium et est plus probable mais moins efficace.

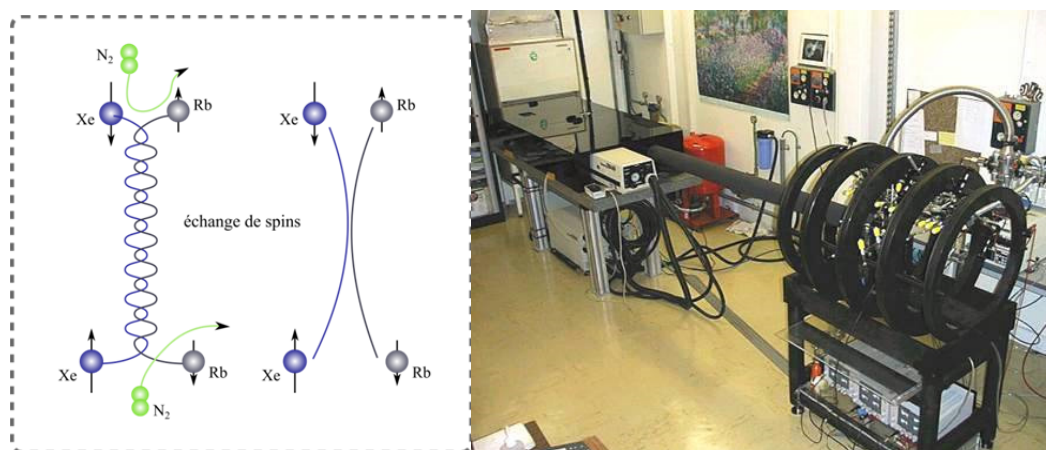


Figure 30 : À gauche : transfert de la polarisation électronique du rubidium vers la polarisation nucléaire du xénon par transfert de spin lors de collisions à deux ou trois corps. À droite : appareillage utilisé par l'équipe de P. Berthault pour générer le xénon hyperpolarisé au CEA de Saclay.

En pratique, l'hyperpolarisation du xénon est réalisée dans une cuve contenant le mélange des trois gaz et placée dans un champ magnétique B_0 . À la sortie de cette cuve, le xénon est condensé à froid dans un tube plongé dans l'azote liquide pour être conservé sous forme solide, en présence d'un champ magnétique, jusqu'à son administration au patient ou son introduction dans l'échantillon étudié. Sous cette forme, l'hyperpolarisation peut être conservée quelques heures.⁸⁰

Les gains en sensibilité obtenus par l'utilisation de xénon hyperpolarisé sont importants mais ne sont pas suffisants pour passer sous la barrière d'une détection de phénomènes biologiques à l'échelle sub-nanomolaire. D'autres techniques d'amplification du signal doivent alors être mises en œuvre, comme la technique d'HyperCEST.

III.5.f. L'HyperCEST :

L'HyperCEST tire profit de l'échange rapide entre le xénon encapsulé et le xénon en solution et est basée sur une technique déjà utilisée pour les agents de contraste pour l'IRM du proton : le CEST (Chemical Exchange Saturation Transfer).⁸¹ Cette nouvelle méthode de détection a été introduite par le groupe de A. Pines en 2006 et prend le nom d'HyperCEST puisqu'elle met en jeu des noyaux hyperpolarisés.⁸²

L'HyperCEST consiste en une détection indirecte des atomes de xénon encapsulés dans la biosonde. Le principe est que, du fait des faibles concentrations en biosondes dans l'organisme, il est plus simple de détecter des variations du signal du xénon libre en solution que de détecter le xénon encapsulé. L'échange du xénon entre la biosonde et la solution est lent par rapport à l'échelle de temps de la RMN du xénon, mais très rapide devant la durée d'une acquisition RMN. Cet échange permanent peut être mis à profit pour détecter la présence de la biosonde, même à de très faibles concentrations. L'idée est de venir saturer (donc dépolariser) les noyaux de xénon encapsulés en irradiant l'échantillon

avec un champ magnétique à leur fréquence de résonance. Pendant cette période de saturation, les noyaux initialement dans les biosondes sont dépolarisés puis échangés avec des noyaux hyperpolarisés en solution. Ces derniers vont à leur tour être dépolarisés en entrant dans la cavité de la biosonde. Le phénomène se répète de nombreuses fois durant le temps de saturation si bien qu'au bilan, une unique biosonde est responsable de la dépolarisation de nombreux noyaux de xénon (partie supérieure de la figure 31). La solution dans laquelle se trouve la biosonde se retrouve ainsi appauvrie en xénon hyperpolarisé, et une acquisition RMN du xénon montre un signal diminué pour le déplacement chimique du xénon en solution (partie inférieure de la figure 31).

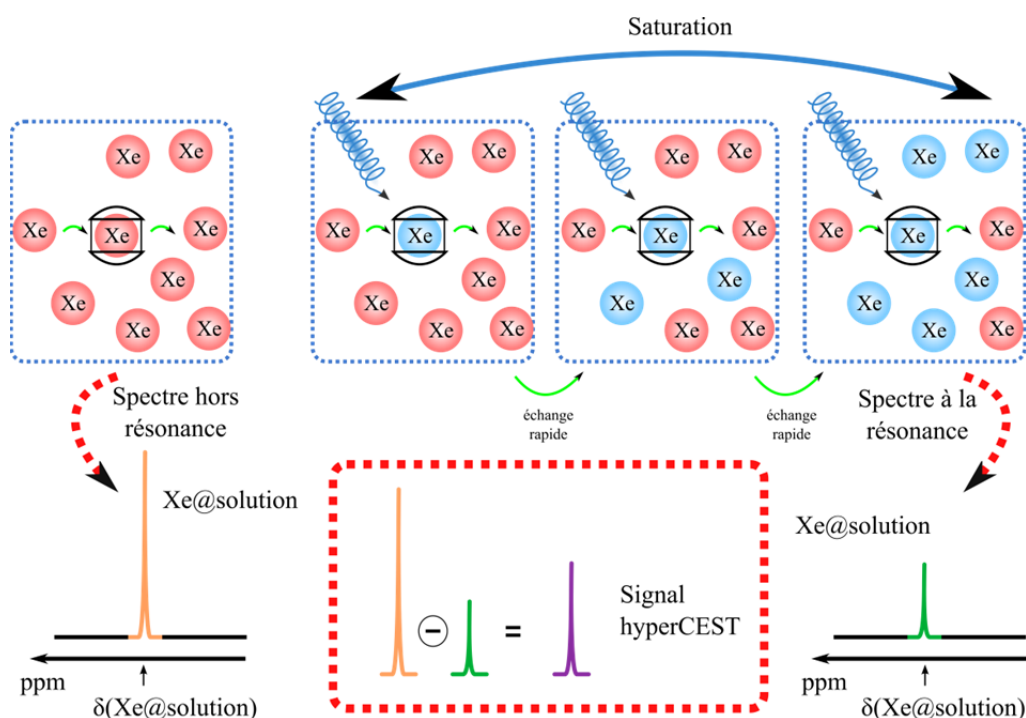


Figure 31 : Principe de la technique d'HyperCEST : Une première acquisition hors résonance est réalisée, puis une seconde acquisition est enregistrée après une période de saturation durant laquelle l'échantillon est irradié à la fréquence de résonance du xénon encapsulé dans les biosondes. Le signal HyperCEST est obtenu par soustraction de ces deux acquisitions.⁷¹

En pratique, le signal d'HyperCEST est obtenu en soustrayant les signaux respectifs du xénon en solution au cours de deux acquisitions : la première en irradiant l'échantillon à une fréquence hors résonance (la fréquence d'irradiation est alors choisie pour être assez loin des fréquences de résonance du xénon en solution ou encapsulé) et la seconde en irradiant l'échantillon à la fréquence du xénon encapsulé (saturation du signal : spectre à la résonance). La variation du signal du xénon en solution entre ces deux acquisitions, soit l'obtention d'un signal d'HyperCEST non nul, est un indicateur de la présence de biosonde dans l'échantillon.

Cette technique est particulièrement intéressante dans le cadre de l'obtention d'images car elle permet de localiser les biosondes dans une zone précise. En effet, une zone contenant de la biosonde sera caractérisée par une perte de signal du xénon en solution (donc un signal HyperCEST non nul après

Chapitre 1: Bibliographie

soustraction), alors qu'une zone ne contenant pas de biosonde ne donnera pas de signal par cette méthode. Cette propriété a été démontrée par l'équipe de A. Pines en utilisant une biosonde de type cryptophane permettant la détection de la protéine d'avidine.⁸² Le fond d'un tube est tapissé d'un lit d'agarose et d'avidine compartimenté en deux zones, l'une contenant la biosonde à faible concentration (5 μ M) et l'autre n'en contenant pas (image a de la figure 32). L'enregistrement d'une première image hors résonance indique la présence de xénon libre dans les deux compartiments (image b), tandis qu'une seconde image obtenue sous irradiation à la fréquence de résonance du xénon encapsulé montre une forte diminution du signal du xénon libre dans la zone contenant la biosonde (image c). Une troisième image, illustrant le résultat de l'expérience d'HyperCEST, est enfin obtenue par soustraction des deux premières et constitue une localisation de la biosonde (image d).

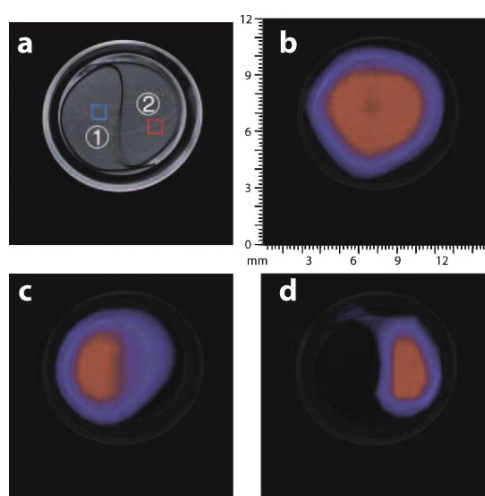


Figure 32 : (a) Tube tapissé d'un lit d'agarose/avidine divisé en deux compartiments. La zone 1 ne contient pas de biosonde alors que la zone 2 contient une biosonde à une concentration de 5 μ M. (b) Image obtenue par une acquisition hors résonance. (c) Image obtenue lors d'une acquisition en irradiant à la fréquence de résonance du xénon encapsulé dans la biosonde. (d) Résultat de l'expérience HyperCEST obtenue par soustraction des signaux (b) et (c).

L'apparition de cette technique d'HyperCEST a ouvert la porte à de nombreuses études donc certaines sont présentées dans la suite de ce chapitre. Elle présente cependant quelques contraintes de mises en œuvre. Dans sa mise en œuvre la plus classique, un balayage en fréquence de saturation est réalisé, ce qui demande de nombreuses acquisitions comprenant chacune une période de saturation. On comprend alors que l'emploi de cette technique nécessite l'étude de signaux stables sur la durée totale de l'étude, mais qu'il faut aussi être en mesure de ravitailler l'échantillon en noyaux hyperpolarisés au cours de l'expérience. De grands progrès ont cependant été réalisés pour l'optimisation de cette technique dans le cas de l'étude de biosondes et ils seront discutés plus en détail au chapitre 3 de ce manuscrit.

L'HyperCEST peut être utilisée avec différentes molécules hôtes encapsulant le xénon, il faut cependant que celles-ci remplissent le cahier des charges présentés plus haut afin d'être considérées

comme de bonnes biosondes. La partie suivante permet un rapide tour d'horizon des supramolécules les plus importantes dans l'encapsulation du xénon.

III.5.g. Structures encapsulant le xénon

Le xénon a un volume de van der Waals de 42 \AA^3 , en appliquant le critère établi par J. Rebek, le volume de la cavité la plus adaptée à encapsuler le xénon est alors de 76 \AA^3 . Cela correspond par exemple à une sphère de $5,3 \text{ \AA}$ de diamètre. Plusieurs structures moléculaires sont connues pour permettre l'encapsulation du xénon.⁸³ Parmi celles-ci, on peut mentionner les cyclodextrines et les calixarènes, cependant ces deux familles ne seront pas étudiées plus en détail ici car leurs propriétés d'encapsulation de xénon ne correspondent pas aux critères que nous avons énoncés pour l'obtention de biosondes. En effet, la plus petite des cyclodextrines a une cavité dont le volume est de l'ordre de 140 \AA^3 . Le complexe entre le xénon et cette molécule hôte est caractérisé par une faible constante d'association de 20 M^{-1} à température ambiante.⁸⁴ Par ailleurs, la vitesse d'échange du xénon est trop grande par rapport à l'échelle de temps de la RMN pour permettre la détection d'un signal correspondant au xénon encapsulé. Le même type de constat peut être fait pour les calixarènes.⁸⁵ En revanche, d'autres structures moléculaires ont donné de bien meilleurs résultats et, à l'heure actuelle, les meilleurs candidats pour la réalisation de biosondes au xénon ^{129}Xe hyperpolarisé sont les cucurbiturils et les cryptophanes.

i. Les cucurbiturils

Les cucurbiturils ou cucurbit[n]urils sont des structures moléculaires composées de n unités glycoluril reliées entre elles par des ponts méthylènes. Le nombre n de ces unités peut varier, ce qui donne naissance à toute une famille de molécules hôtes avec des cavités de taille variable. Le plus petit des cucurbiturils est obtenu pour $n = 5$ et présente une cavité de 82 \AA^3 , ce qui semble adapté à la complexation du xénon. Ce cucurbituril se révèle en effet capable de complexer le xénon dans l'eau, cependant une étude cinétique révèle un processus d'échange du xénon trop lent pour envisager des applications en tant que biosondes. Pour cette structure, le phénomène d'échange semble être ralenti car, pour pénétrer dans la cavité, le xénon (de diamètre de van der Waals de $4,3 \text{ \AA}$) doit traverser un « portail » d'un diamètre de $2,4 \text{ \AA}$. Le cucurbit[6]uril de taille supérieure présente quant à lui un « portail » d'un diamètre de $3,9 \text{ \AA}$ (Figure 33) et donne lieu à des résultats plus prometteurs.

En 2008, l'équipe de K. Kim rapporte des résultats de complexation du xénon dans l'eau par un cucurbituril hydrosoluble CB*[6] qui permet d'atteindre des constantes d'association de 3000 M^{-1} à 295 K .⁸⁶ Les cinétiques d'échanges semblent cependant être ralenties par la présence de cations comme le sodium dans la solution, ces derniers venant établir des interactions au niveau des atomes d'oxygènes du portail. Plus récemment, l'équipe de I. Dmochowski a rapporté l'utilisation d'un CB[6] qui présente des constantes d'association plus modestes envers le xénon (490 M^{-1} à 300K), mais des

constantes d'échange suffisamment grandes pour permettre un échange rapide par rapport à l'échelle de temps de la RMN du xénon.⁸⁷

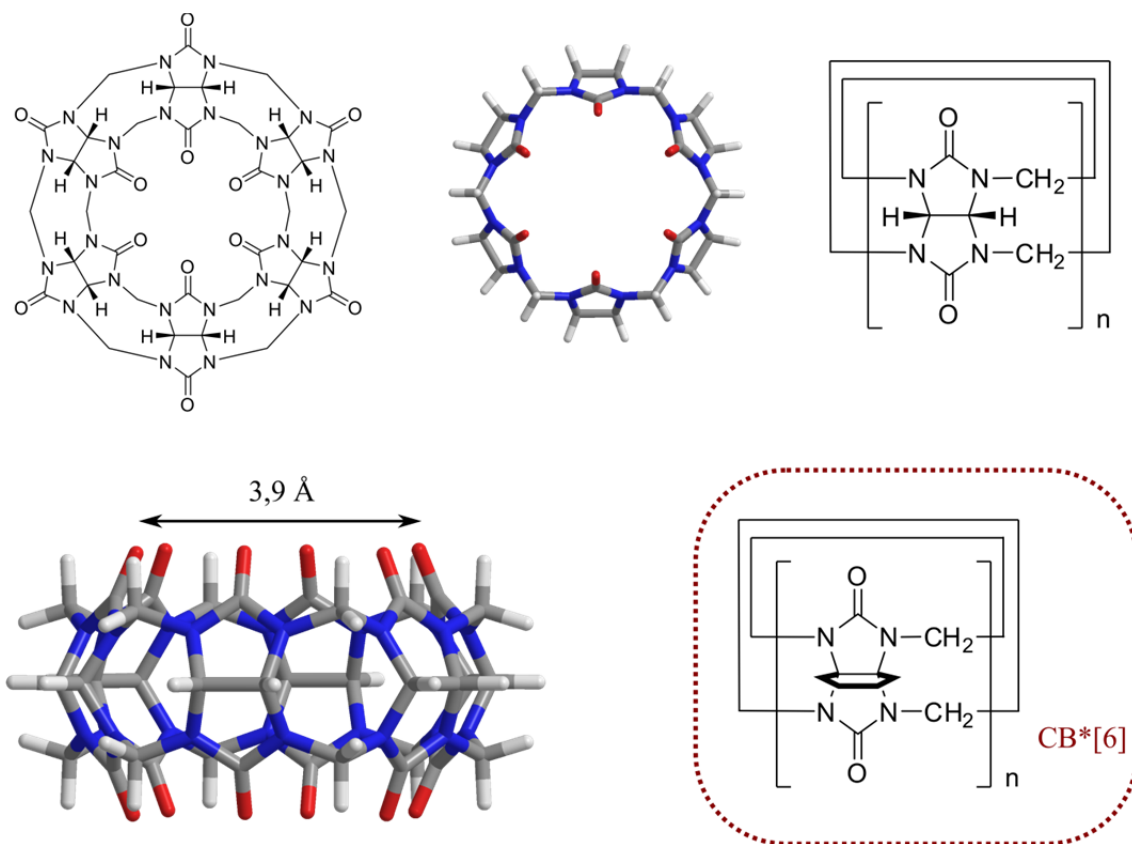


Figure 33 : Différentes représentations des cucurbit[6]urils et du CB*[6] dans l'encadré.⁸⁶

Ces structures semblent prometteuses pour des utilisations en tant que biosondes pour le xénon hyperpolarisé, bien que certaines craintes soient émises quant à la compétition pour les sites de complexation du xénon avec des espèces endogènes (polyamines) dans les milieux biologiques.⁸⁷

ii. Les cryptophanes

Le premier article traitant de la complexation du xénon au sein du cryptophane A date de 1998⁵⁰ et a ouvert la porte à de très nombreuses études réalisées par la suite pour comprendre plus en détail les aspects thermodynamiques et cinétiques de cette encapsulation. À l'heure actuelle, l'encapsulation du xénon et son application à la création de biosondes pour le xénon hyperpolarisé est un des champs d'étude majeurs des cryptophanes. Afin de comprendre en quoi ces derniers constituent de bons candidats pour des biosondes pour l'IRM au xénon 129, il faut s'intéresser aux critères énoncés plus haut.

▪ Les constantes d'association

La figure 34 présente la structure générale des cryptophanes tels qu'ils seront décrits pour faire une comparaison des constantes d'association envers le xénon.

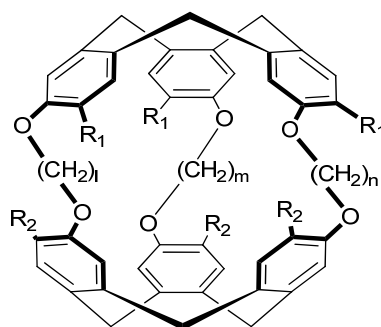


Figure 34 : Structure générale des cryptophanes utilisés pour la comparaison des constantes d'association pour le xénon.

Le tableau suivant permet de récapituler certaines des constantes mesurées jusqu'à ce jour, ainsi que les cavités des cryptophanes mises en jeu lorsqu'elles sont connues.

Cryptophanes	[lmn]	R_1, R_2	Cavité (\AA^3)	$K(M^{-1})$	réf.
Organo-solubles	[111]	H,H	81	10 000	³⁶
	[222]	OMe, OMe	95	3 900	^{50,88}
	[223]	OMe, OMe	102	2 800	⁸⁹
	[233]	OMe, OMe	117	810	⁸⁹
	[333]	OMe, OMe	121	5-10	⁸⁹
Hydrosolubles	[111]	H et 6[Cp*Ru]	81	29 000	⁴⁰
	[222]	$R_1=R_2=\text{OCH}_2\text{COOH}$	95	6 800	³⁴
	[222]	$R_1=\text{OCH}_2\text{COOH}$ $R_2=\text{OMe}$	-	33 000	⁹⁰
	[222]	$R_1=\text{triazole- acide acétique}$ $R_2=\text{OMe}$	-	17 000	⁹⁰
	[222]	$R_1=\text{triazole- éthylamine}$ $R_2=\text{OMe}$	87	42 000	⁴²
	[223]	$R_1=R_2=\text{OCH}_2\text{COOH}$	102	2 200	³⁴
	[233]	$R_1=R_2=\text{OCH}_2\text{COOH}$	117	2 200	³⁴
	[333]	$R_1=R_2=\text{OCH}_2\text{COOH}$	121	1 000	³⁴

Tableau 1 : Valeurs de volume des cavités et des constantes d'association envers le xénon pour un ensemble de cryptophanes en solution organique et en solution aqueuse.

En milieu organique, comme le tétrachloroéthane, la taille de la cavité semble être le paramètre prédominant pour expliquer les constantes d'associations mesurées, ce qui est cohérent avec le fait que la stabilité est assurée par des forces de van der Waals. On observe en particulier une relation linéaire entre les valeurs de constantes d'association et la cavité pour les cryptophanes pour lesquels $R_1=R_2=\text{OMe}$ et [lmn]=[222], [223], [233], [333].⁸⁹

Chapitre 1: Bibliographie

Si l'on applique le critère de J. Rebek, le xénon ayant un volume 42 \AA^3 , la cavité idéale a un volume de 76 \AA^3 . Le cryptophane qui se rapproche le plus de ce critère est celui pour lequel $R_1=R_2=H$ et $[lmn]=[111]$ avec une cavité de 81 \AA^3 . Ceci se vérifie puisque ce dernier donne lieu à la plus grande constante d'association mesurée dans le 1,1,2,2-tétrachloroéthane, $K=10\,000 \text{ M}^{-1}$ à 298 K .

Une étude décrivant la complexation du xénon dans l'eau par un cryptophane [222] hydrosoluble a été réalisée en 2006. Ce système supramoléculaire est caractérisé par une constante d'association plus importante que pour son homologue soluble en milieu organique (6800 M^{-1} contre 3900 M^{-1}).³⁴ Le même constat peut être fait pour tous les cryptophanes en série hydrosoluble, les constantes obtenues sont plus grandes qu'en série organo-soluble atteignant jusqu'à $42\,000 \text{ M}^{-1}$ pour le cryptophane [222] portant des trois groupements triazole éthylamine.⁴² Ce phénomène s'explique en partie par le caractère hydrophobe du xénon : un effet hydrophobe vient s'ajouter aux forces de van der Waals mises en jeu lors de l'encapsulation en milieu organique pour mener à des constantes d'association plus grandes en solution aqueuse.

Pour les trois cryptophanes hydrosolubles [222] ayant des groupes R_1 et R_2 différents, les constantes obtenues sont particulièrement élevées ($17\,000$, $33\,000$ et $42\,000 \text{ M}^{-1}$). Les auteurs justifient ceci par la présence d'un moment dipolaire axial, dû à la présence de groupements différents sur les deux CTB, qui permet une interaction stabilisante supplémentaire avec le nuage électronique très polarisable du xénon.^{42,90} Il convient cependant de remarquer que les techniques de mesure des constantes d'association mises en œuvre pour ces études sont différentes des techniques plus classiques utilisées pour le reste des valeurs du tableau. En effet, de manière classique, les constantes d'association du xénon au sein des cavités sont mesurées par des expériences de compétition avec un cryptophane connu, l'intégration des signaux RMN du xénon encapsulé dans chacune des structures permettant alors de remonter au rapport des constantes d'association. En revanche, pour les trois cryptophanes mentionnés plus haut, les mesures des constantes d'association menées par l'équipe de I. Dmochowski ont été réalisées par titrage calorimétrique (ITC). L'utilisation de cette technique rend plus difficile d'établir une comparaison précise des valeurs présentées pour ces trois structures avec le reste du tableau.

Les cryptophanes, dans leur ensemble, présentent néanmoins de très bonnes affinités pour le xénon, en particulier en série hydrosoluble. La première condition pour l'utilisation en tant que biosonde est ainsi remplie.

▪ La différence de déplacement chimique du xénon en solution et encapsulé

Pour la grande majorité des cryptophanes, la différence de déplacements chimique entre le xénon encapsulé et le xénon libre en solution est de plus de 112 ppm . Une partie de ces déplacements est donnée dans le tableau suivant :

Cryptophanes	[lmn]	R1, R2	$\delta Xe@crypto$ (ppm)	$ \delta Xe@crypto - \delta Xe_{libre} $ (ppm)	réf
Organo-solubles	[111]	H,H	31	194	36
	[222]	OMe, OMe	68	156	89
	[223]	OMe, OMe	60	164	89
	[233]	OMe, OMe	47	177	89
	[333]	OMe, OMe	30	186	1
Hydrosolubles	[111]	H et 6[Cp*Ru]	308	112	40
	[222]	R1=R2=OCH ₂ COOH	64	133	34
	[222]	R1= triazole- éthylamine R2=OMe	63	134	42
	[223]	R1=R2=OCH ₂ COOH	52	145	34
	[233]	R1=R2=OCH ₂ COOH	42	155	34
	[333]	R1=R2=OCH ₂ COOH	35	162	34

Tableau 2 : Valeurs des déplacements chimiques du xénon libre et du xénon encapsulé pour un ensemble de cryptophanes en solution organique et en solution aqueuse.

L'écart minimal entre les deux environnements du xénon peut être exprimé en hertz, en considérant un appareil d'IRM de bas champ magnétique (1.5 T) et le rapport gyromagnétique du xénon $\gamma = 11,841 \text{ Mhz.T}^{-1}$. Il vient alors que l'écart minimal en fréquence pour le xénon libre et le xénon encapsulé est d'environ 2000 Hz. Cette valeur permet de déterminer la limite supérieure du régime d'entrée et sortie lent du xénon. Ainsi tant que la vitesse d'échange du xénon est inférieure à 2000 Hz, le régime est considéré comme lent.

▪ La cinétique d'échange du xénon

Pour tous les cryptophanes mentionnés précédemment, les valeurs des constantes d'échange sont situées entre 10 et 100 Hz ce qui les place tous dans un régime d'échange lent. Cependant les cages les plus petites mènent à des constantes d'échange trop faibles et limitent le ravitaillement en xénon hyperpolarisé dans le cryptophane. Les cages de type [222] ou [223] semblent, en cela, plus adaptées à des applications en tant que biosondes.⁵⁸ Cette considération purement structurale doit bien évidemment être pondérée par la facilité d'accès synthétique à ces cages. Ce facteur dépend fortement de la nature de la cage envisagée et sera le facteur déterminant dans la détermination du meilleur candidat pour la création d'une nouvelle biosonde.

▪ Le temps de relaxation du xénon dans le cryptophane

Les temps de relaxation T_1 mesurés pour le xénon au sein des différents cryptophanes varient entre 5 et 20 s. La principale source de relaxation du xénon encapsulé est le couplage dipolaire xénon-proton.

En pratique, les temps de relaxation mesurés sont suffisamment longs pour réaliser les acquisitions RMN ou IRM.

Tous les critères énoncés étant remplis, les cryptophanes semblent constituer de bonnes plateformes moléculaires pour la construction de biosondes pour l'IRM du xénon.

III.6. Biosondes cryptophanes pour l'IRM du xénon

La première biosonde combinant xénon et cryptophane est due au groupe d'A. Pines en 2001.¹ En partant d'un cryptophane A fonctionnalisé, ils ont inséré un motif biotine connu pour son affinité envers la protéine d'avidine. Les signaux RMN du xénon de ce système souffrent d'une complexité particulière due à la présence de 4 diastéréoisomères (la chaîne latérale contient un centre stéréogène non contrôlé et le cryptophane est utilisé sous forme racémique).⁹¹ Malgré cette difficulté supplémentaire, il est possible de visualiser la présence ou l'absence d'avidine liée à la biosonde en suivant le déplacement chimique du xénon (Figure 35). Cette biosonde a, par la suite, été optimisée en modifiant la nature du bras espaceur entre la biotine et le cryptophane.^{92,93}

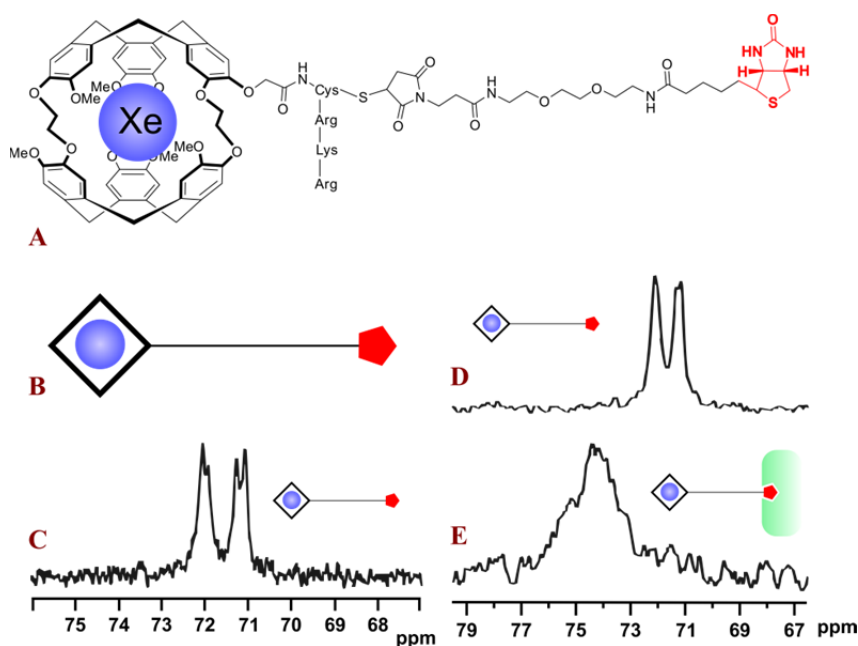


Figure 35 : A) Encapsulation du xénon par un cryptophane décoré d'une biotine reliée par un bras espaceur. B) Représentation simplifiée de la biosonde encapsulant le xénon. C) Spectre RMN du ^{129}Xe de la biosonde seule (300µM) montrant l'éclatement du signal dû aux diastéréoisomères. D) et E) Titration RMN réalisée en partant de la biosonde seule (300µM, spectre D) jusqu'à l'ajout de 1,2 équivalent d'avidine (spectre E).

Depuis 2001, de nombreuses biosondes ont été développées par un ensemble d'équipes, permettant de détecter des phénomènes biologiques variés (température,⁹⁴ pH,⁹⁵ complémentarité d'un brin d'ADN,⁹⁶ présence d'une enzyme⁹⁷⁻¹⁰⁰, présence de petits analytes¹⁰¹, présence de cations^{102,103}).

Cependant, en vue de se rapprocher d'une application *in vivo*, les études se sont vite tournées vers des expériences ciblant des phénomènes à la surface ou à l'intérieur des cellules. Plusieurs étapes ont successivement été franchies.

- **La première mise en évidence d'une interaction entre une biosonde et la membrane cellulaire**

Les premières biosondes ciblant la surface des cellules ont été obtenues par l'équipe de Dmochowski en 2008.¹⁰⁴ Cependant, seule la microscopie confirme la position des biosondes à la surface des cellules, aucune étude RMN du xénon n'a été entreprise sur ce système.

- **Le premier spectre RMN du xénon d'une biosonde internalisée**

Le premier système permettant de suivre l'internalisation d'un cryptophane par la RMN du xénon est réalisé en 2011.¹⁰⁵ Le cryptophane synthétisé contient une chaîne latérale portant un pentafluorophénol qui permet d'assurer une reconnaissance au niveau des récepteurs d'une protéine portée par le foie : la transferrine (Figure 36 a) et b)). L'un des intérêts de cette protéine est qu'elle présente de nombreux sites de reconnaissance, ce qui permet d'augmenter la densité de cryptophane et d'assurer par là même un signal xénon plus intense. L'internalisation de la protéine (par un phénomène d'endocytose) portant les biosondes est, dans un premier temps, mise en évidence par microscopie, en localisant les fluorophores préalablement greffés à la surface de cette dernière (Figure 36 c) et d)).

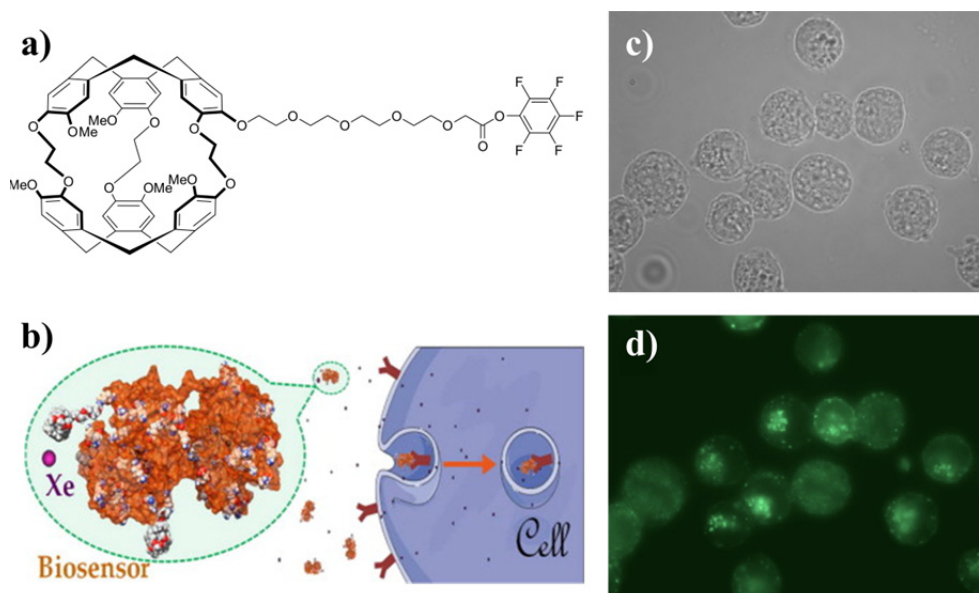


Figure 36 : a) Structure du cryptophane présentant un pentafluorophénol capable de reconnaître les récepteurs de la transferrine. b) Schéma de l'internalisation de la biosonde. c) Image de microscopie des cellules incubées avec la biosonde. d) Image de fluorescence montrant la présence de la biosonde dans les cellules étudiées.¹⁰⁵

Des spectres RMN du xénon hyperpolarisé ont également pu être enregistrés une fois la biosonde internalisée. Cependant, l'intensité du signal ^{129}Xe obtenu suggère qu'un autre phénomène se

superpose au phénomène recherché. Les expériences semblent montrer que le cryptophane interagit fortement avec les membranes cellulaires, ce qui est probablement dû au caractère lipophile de ce dernier. Ce problème pourrait être en partie résolu par l'introduction de groupements hydrosolubilisants au plus près du cryptophane.

▪ La première application de la technique d'HyperCEST pour une biosonde internalisée

En 2013, le groupe de Pines publie les résultats obtenus en attachant un dérivé du cryptophane A sur un bactériophage ciblant des récepteurs cellulaires surexprimés dans certains types de cancer.¹⁰⁶ Cette étude permet de montrer une bonne spécificité dans la reconnaissance des récepteurs ciblés par la biosonde, ce qui n'avait pas été le cas pour la biosonde à base de transferrine présentée plus haut. Deux jeux de cellules sont incubés par le bactériophage portant les cryptophanes. L'un constitué de cellules issues d'une ligne cellulaire présente dans les cancers du sein et présentant une surexpression du récepteur visé, et l'autre constitué de cellules de type lymphocyte T ne présentant que très peu de récepteur cible. Seules les cellules permettant la reconnaissance de la biosonde donnent un signal en HyperCEST indicatif de la présence de xénon encapsulé dans la biosonde.

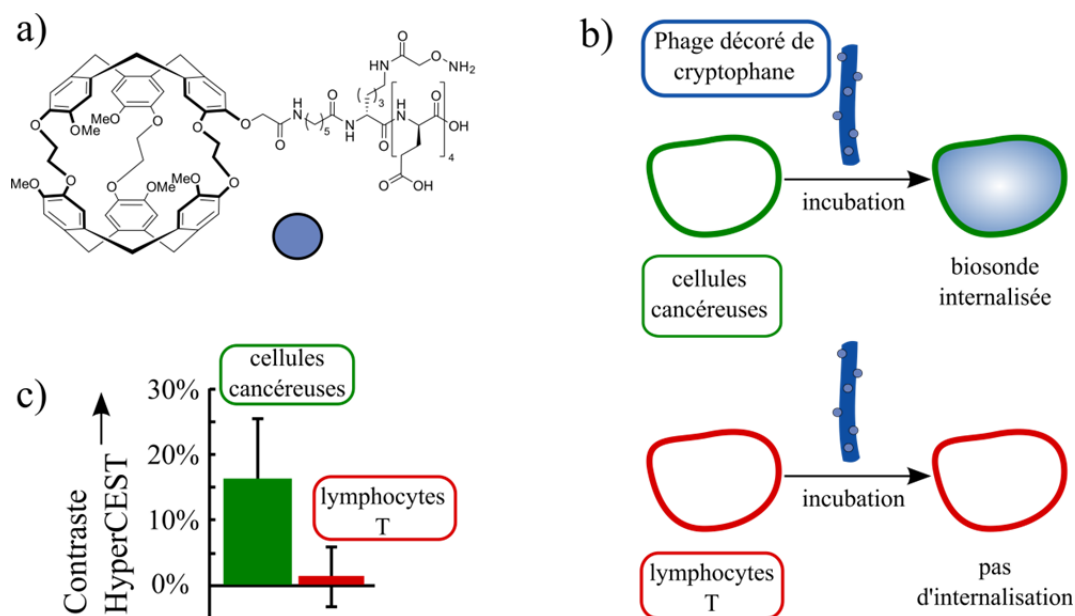


Figure 37 : a) Dérivé du cryptophane A utilisé pour être greffé sur le bactériophage. b) Incubation du bactériophage qui n'est reconnu que dans les cellules cancéreuses. c) Diagramme du contraste HyperCEST obtenu pour les deux jeux de cellules étudiées.¹⁰⁶

▪ Les premières images d'IRM du xénon hyperpolarisé d'une biosonde internalisée

Les premières images d'IRM du xénon hyperpolarisé *in cellulo* sont présentées par l'équipe de L. Schröder en 2014.¹⁰⁷ Dans cette étude, un dérivé du cryptophane A, sur lequel est greffé un groupement fluorophore permettant une mesure de contrôle de l'internalisation par microscopie, est placé en présence d'une culture cellulaire immobilisée sur un lit d'alginate (Figure 38 a et b).

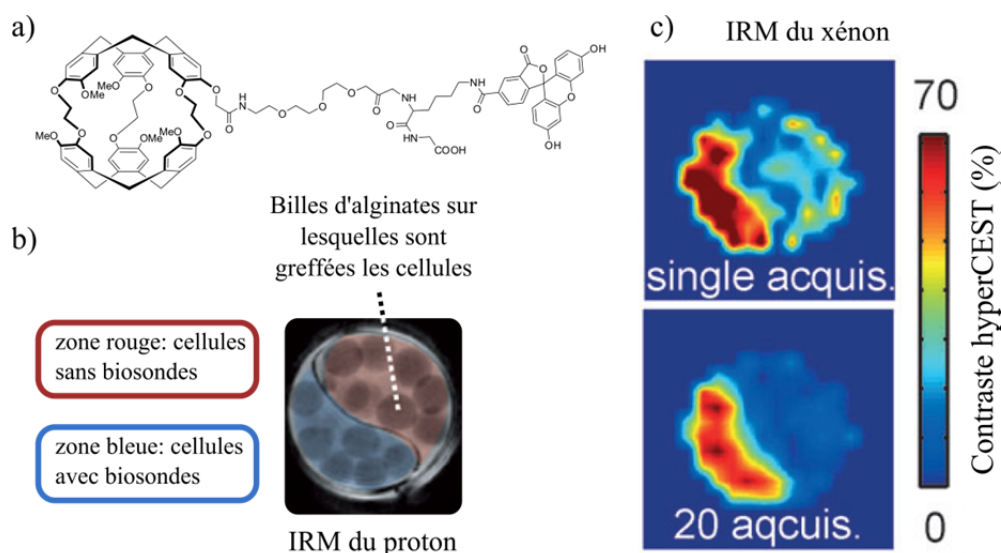


Figure 38 : a) Structure du cryptophane portant un fluorophore et un site de reconnaissance pour les cellules ciblées. b) IRM du proton montrant les deux compartiments contenant les billes d'alginate sur lesquelles sont greffées les cellules contenant la biosonde (zone bleue) et les cellules sans biosonde (zone rouge). Les couleurs rouge et bleu ont été rajoutées de manière artificielle par traitement de l'image. c) IRM du xénon montrant par un niveau de couleur l'intensité du contraste HyperCEST pour une expérience avec une seule acquisition et une expérience avec 20 acquisitions.¹⁰⁷

Une zone de contrôle est juxtaposée, dans laquelle les cellules sont immobilisées de la même façon, mais aucune biosonde n'est introduite. La concentration intracellulaire de biosonde est très faible (15 μM), cependant, le suivi de ces deux zones par IRM du xénon avec la technique d'HyperCEST permet clairement de localiser, avec une résolution millimétrique, les cellules contenant les biosondes (Figure 38 c).

- **Les premières images d'IRM du xénon hyperpolarisé permettant d'atteindre des cibles inaccessibles par l'IRM traditionnelle du proton**

Les glycanes sont des biopolymères présents à la surface des cellules et intervenant dans un grand nombre de phénomènes biologiques comme les interactions entre cellules, le développement embryonnaire ou encore la métastase cancéreuse.¹⁰⁸ Cependant, à ce jour, aucune image de ces biopolymères par les techniques traditionnelles d'IRM du proton n'a pu être réalisée avec des contrastes exploitables. L'étude de ces glycanes repose pour l'instant sur des images de fluorescence, mais celles-ci sont restreintes à des études de surface des échantillons en raison des limites de pénétration optique, et empêchent les mesures *in vivo*. Pour répondre à ce manque, l'équipe de L. Schröder a récemment développé une biosonde basée sur le cryptophane A qui tire profit d'une possibilité de se lier au glycanes par une chimie « bio-orthogonale ».¹⁰⁹ Cette stratégie consiste à introduire une nouvelle fonction chimique directement sur le glycanes afin d'attacher de manière covalente la biosonde à la surface du glycanes dans un second temps. La nouvelle fonction introduite doit être assez petite et « bio-orthogonale » pour être ignorée par le fonctionnement normal de la

Chapitre 1: Bibliographie

cellule. Le groupement utilisé par le groupe de L. Schröder est un azide qui peut réagir avec la fonction alcyne terminale présente sur la biosonde par une réaction de *click chemistry* catalysée par un sel de cuivre (Figure 39). La fixation de la biosonde sur le glycane est contrôlée par fluorescence à l'aide d'un fluorophore greffé sur la biosonde.¹⁰⁸

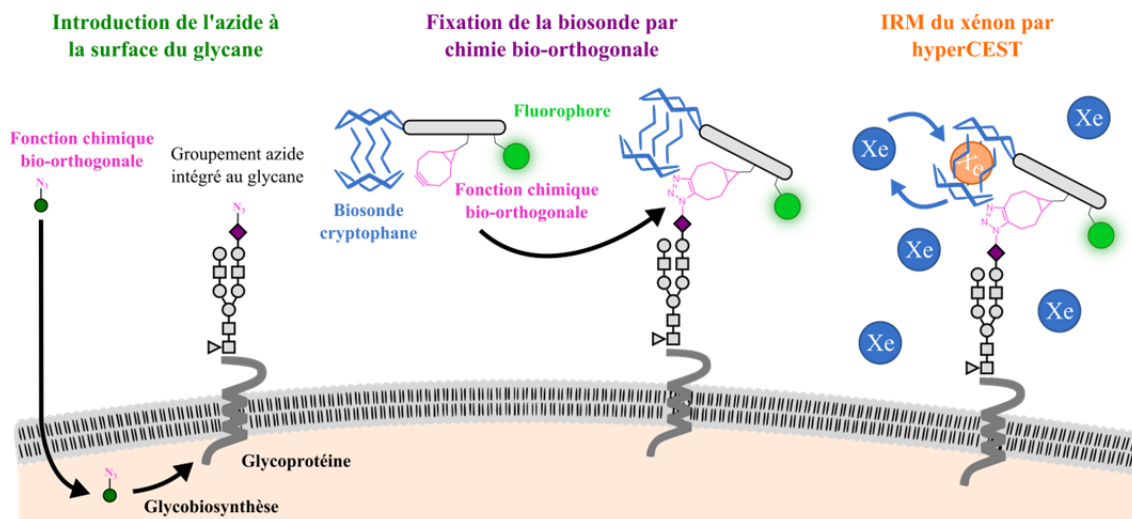


Figure 39 : Schéma illustrant la fixation de la biosonde à la surface des glycane par chimie bio-orthogonale.¹⁰⁹ La fonction azide est introduite à l'aide d'un sucre qui est incorporé dans la membrane du glycane. La biosonde portant une fonction alcyne vient ensuite réagir par chimie bio-orthogonale. Ces deux étapes sont réalisées plusieurs jours avant l'analyse du glycane. Le xénon est ensuite ajouté à l'échantillon juste avant l'examen IRM avec la technique d'HyperCEST.

Cette étude, menée *in cellulo*, confirme la faisabilité de l'IRM par le xénon hyperpolarisé avec la technique d'HyperCEST pour des cellules vivantes et ouvre la porte à des essais sur des organes isolés et transfusés dans un premier temps et à des essais *in vivo* par la suite.

Le développement conséquent des études portant sur les biosondes pour le xénon 129 hyperpolarisé basées sur des cryptophanes témoigne de l'importance de ce champ d'application pour la chimie des cryptophanes et de sa portée grandissante. Des progrès restent à réaliser dans la recherche de l'utilisation *in vivo*, en particulier en termes d'accessibilité synthétique à plus large échelle des molécules. L'un des objectifs de cette thèse s'inscrit dans cette démarche et nous détaillerons dans la dernière partie de ce chapitre les solutions que nous avons envisagées. Un autre aspect de la chimie des cryptophanes a lui aussi fait l'objet d'études importantes ces dernières années : l'encapsulation des cations métalliques toxiques comme le césium et le thallium. Le défi posé ici est de nature écologique et sanitaire de par la toxicité importante de ces cations. Les propriétés d'encapsulation de ces derniers par les cryptophanes permettent d'envisager de meilleures détections, voire la mise au point de procédés d'extraction des eaux polluées. La partie suivante de ce chapitre présente ainsi les enjeux de cette encapsulation de cations métalliques par les cryptophanes, et les résultats obtenus jusqu'à ce jour dans ce domaine.

IV. Encapsulation des cations métalliques césium et thallium

IV.1. Enjeu

Certains métaux présentent des risques pour l'environnement et pour l'homme de par leur toxicité. Parmi tous ces métaux, les cations césium Cs^+ et thallium Tl^+ présentent des défis de taille. Ils sont tous deux rejetés dans la nature par diverses activités humaines (normales ou accidentelles) et la mise au point de procédés efficaces pour leur détection et leur extraction des milieux biologiques comme l'eau constituent des champs de recherche actifs.

▪ Le césium

Le césium se trouve en milieu aqueux sous la forme de cation monovalent Cs^+ . Ce cation présente une toxicité à concentration élevée car il vient remplacer le potassium au niveau des muscles et des globules rouges, ce qui entraîne des maladies cardiaques et peut être source de cancers.¹¹⁰

Lors de la fission des noyaux d'uranium et de plutonium dans les centrales nucléaires, deux isotopes radioactifs du césium sont produits, le ^{137}Cs et le ^{135}Cs . Ceux-ci se retrouvent alors dans les déchets nucléaires hautement radioactifs (High Level radioactive Waste, HLW) qu'il faut retraiter. L'isotope ^{137}Cs a une demi-vie de 30,1 années et constitue avec le ^{90}Sr l'une des principales sources d'émission de radiations et de chaleur des déchets nucléaires. Le ^{135}Cs a quant à lui une demi-vie de 2,3 millions d'années et représente un danger à très long terme pour l'environnement. L'extraction du ^{137}Cs et du ^{90}Sr des déchets nucléaires permet de gérer ces derniers de manière plus sûre et de simplifier le processus de vitrification en vue de stockage en couche géologique profonde.^{111,112} À la production de césium dû au fonctionnement « normal » des centrales nucléaires, s'est ajoutée une source accidentelle issue des catastrophes nucléaires, comme celle de Tchernobyl en 1986 ou de Fukushima en 2011, qui ont relâché, et relâchent encore, de larges quantités de césium radioactif dans l'air et dans les eaux environnantes. Pour faire face à ce défi environnemental, des procédés d'extraction du césium des solutions aqueuses ont été mis au point ces dernières décennies. Ils reposent en majorité sur la précipitation du césium¹¹³⁻¹¹⁵ ou sur des extractions liquide-liquide en utilisant des solvants contenant des agents d'extraction.¹¹¹

Les agents d'extraction les plus étudiés sont des dérivés des Calixarènes^{111,112,116-120} et des éthers couronnés^{111,117,121,122} (Figure 40). Ces molécules hôtes ont de bonnes constantes de complexation et de bonnes sélectivités, mais présentent le désavantage majeur de ne pas être solubles en solution aqueuse et de devoir être utilisées dans des extractions liquide-liquide impliquant l'utilisation de larges quantités de solvants organiques, ce qui est à la fois onéreux et peu écologique. Des procédés d'extraction solide liquide du césium basés sur l'utilisation de calixarènes greffés ont toutefois été mis au point et brevetés récemment. Ces derniers portent le nom de SOLIEX (solid liquid extraction) et

sont bien plus prometteurs en termes écologiques et économiques, puisqu'ils ne nécessitent plus l'utilisation de solvants toxiques et sont recyclables.^{123,124}

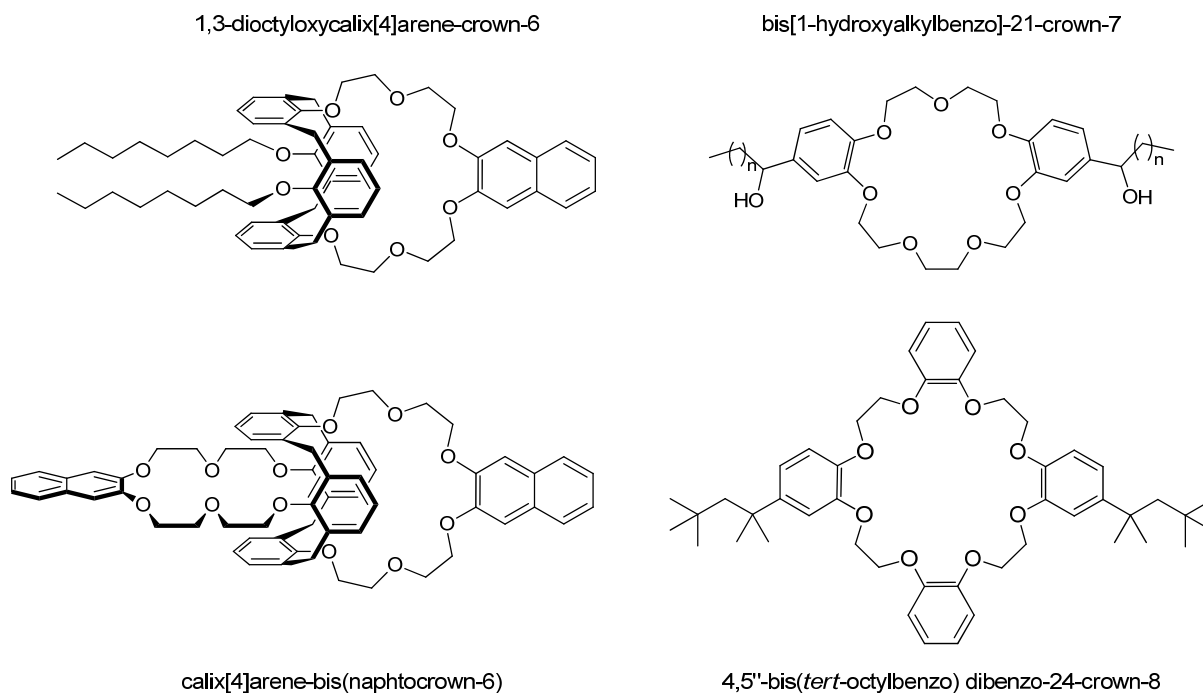


Figure 40 : Structures de quelques ligands utilisés pour l'extraction liquide-liquide du césium.

Les propriétés de complexation des dérivés des calix[4]arène et des calix[6]arène vis-à-vis du césium ont par ailleurs été mises à profit pour élaborer des systèmes permettant de détecter le cation métallique par potentiométrie^{125,126} (en fixant le calixarène à la surface d'une électrode) ou encore par fluorescence^{127,128} (en attachant un fluorophore sur la structure du calixarène).

▪ Le thallium

Le thallium présente lui aussi une toxicité particulièrement forte lorsqu'il est inhalé ou ingéré. Les mécanismes de son action ne sont pas bien connus, mais il est prouvé qu'il entre en compétition avec le potassium dans le fonctionnement de certaines enzymes.^{129,130} Le thallium est rejeté dans la nature par l'industrie du plomb et du zinc, car il est présent dans les minerais traités pour donner ces métaux.¹³¹ Une autre source de pollution par le thallium vient du charbon, de sorte que les sols aux alentours des industries brûlant du charbon sont souvent pollués par le thallium.¹³² La Chine est particulièrement concernée par ce type de pollution.¹³³ Une fois les sols pollués, le thallium entre dans la chaîne alimentaire et s'accumule dans poissons et crustacés.¹³⁴ Il est donc important de trouver des systèmes permettant de capter ce cation et de le détecter. Le thallium présentant une dangerosité même à très faibles concentrations, les systèmes de détection mis au point doivent permettre d'atteindre des seuils très faibles.

Les systèmes les plus utilisés pour capter le thallium d'une solution aqueuse mettent en jeu l'adsorption du thallium sur des matériaux peu onéreux comme la poudre de fer,¹³⁵ la sciure de bois,¹³⁶ ou encore le résidu de pulpe de betterave.¹³⁷ Le thallium est complexé par de nombreuses structures macromoléculaires.^{138,139} On note en particulier que, tout comme le césium, le cation Tl^+ est complexé par des calixarènes.¹⁴⁰⁻¹⁴² Ces systèmes peuvent être mis à profit pour l'élimination du cation de l'eau polluée par extraction liquide-liquide¹⁴³ ou encore pour sa détection, en greffant les calixarènes sur des électrodes.^{144,145}

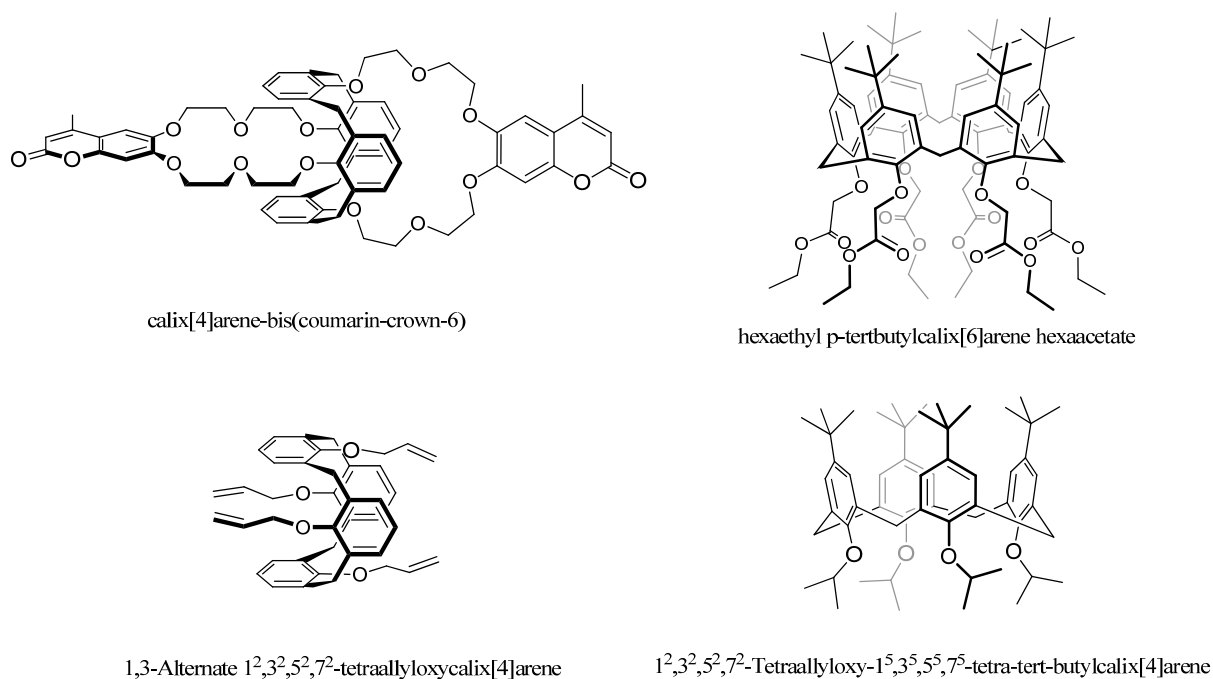


Figure 41 : Exemples de structure capables de former des complexes avec le thallium Tl^+ .

En parallèle du développement de ces structures supramoléculaires permettant l'encapsulation des cations Cs^+ et Tl^+ , des études ont été menées ces cinq dernières années sur la complexation de ces mêmes cations au sein des cryptophanes. En effet, les cryptophanes apparaissent comme une alternative particulièrement intéressante aux autres supramolécules présentées, car ils sont capables de former des complexes très stables en solution aqueuse basique et ne nécessitent donc pas l'emploi de solvants organiques. Les propriétés de complexation des cations métalliques Cs^+ et Tl^+ au sein des cryptophanes fait l'objet de la suite de ce chapitre.

IV.2. Résultats de complexation par les cryptophanes

IV.2.a. Chronologie

Les premiers résultats de complexations de cations métalliques par des cryptophanes sont dus aux travaux de l'équipe de S. Akabori au Japon.⁵² Les cryptophanes utilisés pour cette étude présentent des atomes d'oxygène au milieu des bras pontants, ce qui permet de créer, tout comme dans les éthers

couronnes, de nombreuses interactions ion-dipôles qui s'ajoutent aux interactions π -cations établies avec les cycles aromatiques. Par la suite, l'équipe de E. Weber démontre aussi la complexation de cations métalliques en utilisant cette fois des cryptophanes présentant des groupements acides carboxyliques dans les chaînes pontantes.¹⁴⁶ En 2009, c'est au tour de l'équipe de B. Abrahams de rapporter la complexation de cations Rb^+ et Cs^+ entre deux unités CTB hexa-phénolique maintenues entre elles par liaisons hydrogène.¹⁴⁷ Ces structures sont obtenues à l'état solide, cependant, elles semblent se maintenir lors de la mise en solution des cristaux obtenus et même s'auto-assembler en solution.

Au laboratoire de l'ENS de Lyon, l'équipe a obtenu les premiers résultats concernant les cations métalliques et un dérivé hydrosoluble du cryptophane A en milieu basique en 2010,¹⁴⁸ lors de l'étude des propriétés chiroptiques du cryptophane. Cette étude indique que les spectres de dichroïsme circulaire du cryptophane étudié sont grandement modifiés en présence de contre-ions métalliques. Les propriétés chiroptiques des différents cryptophanes se sont par la suite révélées être la source de précieuses informations pour étudier les complexes de différents cations au sein des cavités de ces molécules hôtes.¹⁴⁹⁻¹⁵²

IV.2.b. Les propriétés chiroptiques des cryptophanes

Les propriétés chiroptiques d'un composé optiquement actif sont les propriétés optiques induites par la chiralité du composé, comme la dispersion rotatoire optique (DRO ou ORD) ou le dichroïsme circulaire (CD). Ces propriétés traduisent le fait que les substances chirales absorbent de manières différentes les lumières polarisées circulairement gauche et les lumières polarisées circulairement droite. Selon l'énergie des radiations absorbées, les transitions générées sont de type électronique (ECD) ou vibrationnelle (VCD).

i. Dichroïsme circulaire électronique (ECD)

▪ Spectre UV/visible

Les molécules qui présentent des chromophores (les cycles benzéniques dans le cas des cryptophanes) peuvent absorber des radiations UV/visibles pour une longueur d'onde d'excitation λ_0 . Cette absorption va de pair avec une transition entre niveaux électroniques de la molécule et se traduit expérimentalement par l'obtention d'un spectre UV/visible présentant un maximum d'absorption (caractérisé par le coefficient d'absorption molaire ϵ) à la longueur d'onde λ_0 . La figure 42 présente le spectre UV de la molécule de benzène. Celui-ci montre la présence de trois bandes principales pour les longueurs d'onde $\lambda = 180, 205$ et 255 nm. Les coefficients d'absorption molaires sont aussi portés sur le spectre.

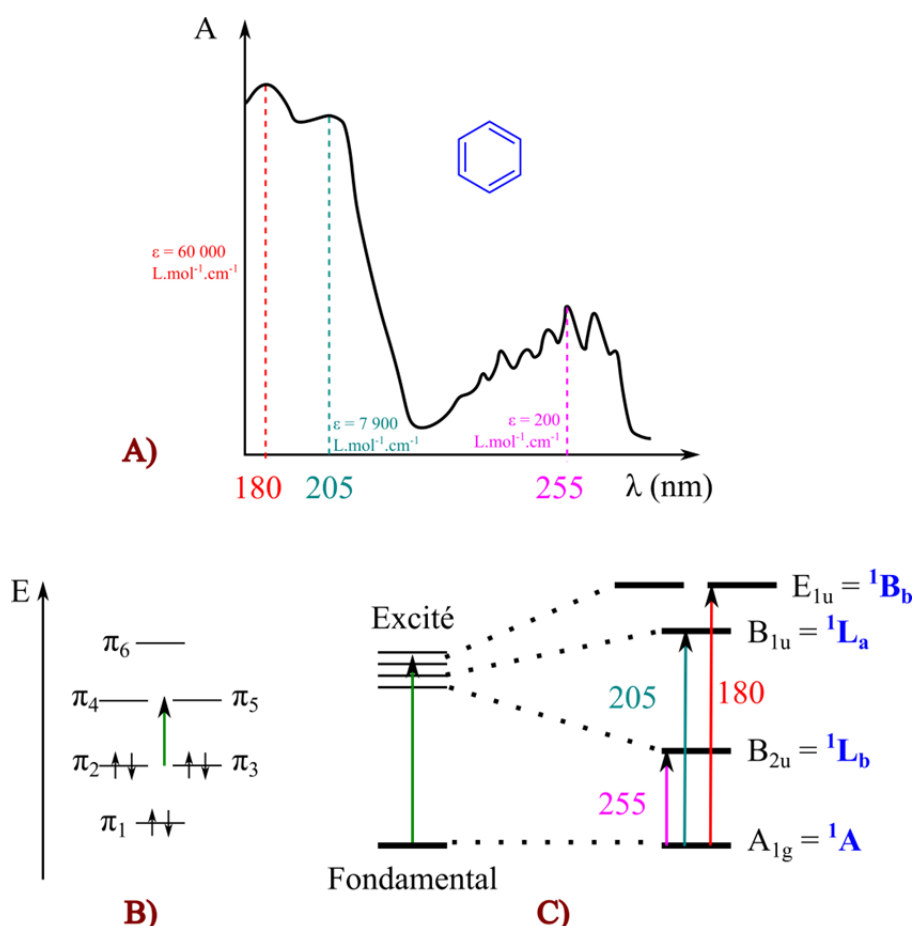


Figure 42 : A) Spectre d'absorption UV du benzène montrant trois bandes d'absorption à 180, 205 et 255 nm, les coefficients d'absorption molaires sont également indiqués. B) Diagramme énergétique des orbitales π du benzène, la flèche verte représente l'une des transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ possibles. C) Diagramme énergétique des états électroniques du benzène pour les transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ envisagées. Pour chaque niveau énergétique, on trouve en noir l'étiquette de symétrie et en bleu la notation de Platt correspondante.¹⁵³ On retrouve les trois bandes visibles sur le spectre UV pour les transitions $^1A \rightarrow ^1L_b$, $^1A \rightarrow ^1L_a$ et $^1A \rightarrow ^1B_b$.

Les encarts B et C de cette même figure montrent, quant à eux, les diagrammes énergétiques correspondants aux bandes observées. Une première analyse indique que les trois bandes correspondent à des transitions de type $\pi \rightarrow \pi^*$ (encart B), tandis qu'une analyse plus poussée montre que la configuration électronique de l'état excité se décompose en trois niveaux électroniques ayant pour étiquettes de symétrie respectives B_{2u}, B_{1u} et E_{1u}. Par la suite, nous utiliserons plutôt les notations introduites par J. R. Platt en 1949 pour décrire les états excités des composés aromatiques et polyaromatiques,¹⁵³ ces notations sont indiquées en bleu sur la figure 42.

Lors d'une transition électronique, il y a passage de la configuration électronique fondamentale à une configuration électronique excitée. Les orbitales moléculaires peuplées à l'état excité présentant un développement spatial différent de celui des orbitales de l'état fondamental, une transition électronique s'accompagne d'un réarrangement du nuage électronique de la molécule. Ce dernier peut se décrire comme une translation des électrons (ce qui correspond à un moment dipolaire électrique de

Chapitre 1: Bibliographie

transition $\vec{\mu}$) et/ou d'une rotation de ces derniers autour de la molécule constituée des noyaux considérés comme fixes (ce qui correspond à un moment dipolaire magnétique de transition \vec{m}).

Dans le cas de l'enregistrement d'un spectre UV/visible, nous nous intéressons seulement au cas où un moment dipolaire électrique de transition est mis en jeu dans la transition (cette dernière est alors dite polarisée dans la direction de $\vec{\mu}$). Dans le cas du benzène, les transitions $^1A \rightarrow ^1L_b$ et $^1A \rightarrow ^1L_a$ sont respectivement polarisées selon le petit et le grand axe du cycle aromatique.

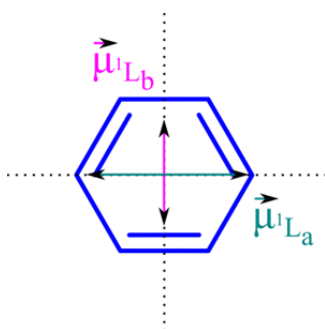


Figure 43 : Directions des moments dipolaires de transition des deux premières transitions électroniques du benzène. Le sens de ces moments dipolaires est arbitraire et n'est donc pas précisé.

La grandeur D (force dipolaire de la transition), définie comme le carré du module du moment dipolaire électrique de transition, correspond à l'aire d'absorption d'une bande du spectre UV et peut donc être obtenue en intégrant le spectre expérimental à l'aide de la relation suivante :

$$D = \mu^2 = Cste \int_{\text{bande}} \frac{\varepsilon(\lambda)}{\lambda} d\lambda$$

Cette grandeur fournit ainsi un lien entre la théorie (μ se calcule à partir des orbitales) et l'expérience.

▪ Spectre de dichroïsme circulaire électronique (ECD)

Les spectres de dichroïsme circulaire sont obtenus en envoyant sur l'échantillon une alternance de lumière polarisée gauche et de lumière polarisée droite. On peut alors tracer la différence de coefficients d'absorption molaires obtenus dans chaque cas ($\Delta\varepsilon = \varepsilon_G - \varepsilon_D$) en fonction de la longueur d'onde. Cette grandeur $\Delta\varepsilon$ est intéressante car une substance optiquement active absorbe de manière différente deux lumières polarisées selon que celles-ci sont circulaires gauche ou droite. Cette propriété a été mise en évidence par le physicien Aimé Cotton en 1885 et donne naissance au phénomène de dichroïsme circulaire. La différence $\Delta\varepsilon$ est une grandeur algébrique et peut donc prendre des valeurs positives (on parle alors d'effet Cotton positif) ou négatives (effet Cotton négatif) selon les valeurs relatives de ε_G et ε_D .

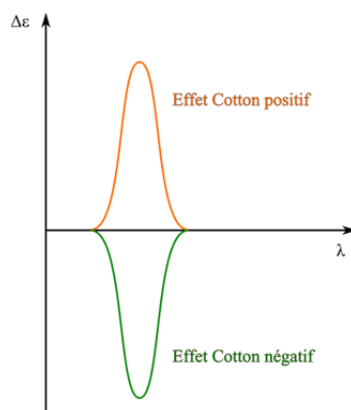


Figure 44 : Spectres ECD d'un composé donnant un effet Cotton positif en orange et d'un composé donnant un effet Cotton négatif en vert.

Le signe de l'effet Cotton est une propriété inhérente des composés chiraux, et deux énantiomères présentent des effets Cotton de même intensité mais de signe opposé. On obtient alors des spectres ECD miroirs par rapport à l'axe des abscisses (comme les spectres orange et vert de la figure 44). Bien qu'il n'y ait pas de lien direct entre la configuration absolue d'un énantiomère et le signe de l'effet Cotton, il est possible d'utiliser les spectres de dichroïsme circulaire électronique pour attribuer une configuration absolue en comparant le spectre obtenu par l'expérience et celui prédit par les calculs de chimie quantique.

De la même façon qu'il est possible d'utiliser la force dipolaire D pour faire un lien théorie-expérience pour les spectres d'absorption en lumière non polarisée, il est possible d'introduire une grandeur R , force rotationnelle de la transition, comme le produit vectoriel du moment dipolaire électrique et du moment dipolaire magnétique de la transition considérée. Expérimentalement, cette grandeur correspond, à une constante près, à l'aire de la courbe de dichroïsme circulaire, ce qui mène à la relation suivante :

$$R = \vec{\mu} \cdot \vec{m} = \mu \times m \times \cos(\vec{\mu}, \vec{m}) = Cste \int_{bande} \frac{\Delta\epsilon(\lambda)}{\lambda} d\lambda$$

Les calculs théoriques des orbitales des états fondamental et excité impliqués dans la transition permettent d'avoir accès aux valeurs théoriques des moments $\vec{\mu}$ et \vec{m} et par là même à la valeur théorique de R . Celle-ci peut ensuite être comparée à la valeur obtenue en intégrant le spectre ECD expérimental.

L'orientation relative de ces deux vecteurs $\vec{\mu}$ et \vec{m} est responsable du signe de l'effet Cotton observé sur le spectre ECD. On comprend ainsi qu'en passant d'un énantiomère à l'autre l'orientation relative des moments de transition est inversée, et on obtient des effets Cotton de signes opposés.

▪ Spectre ECD des cryptophanes

Les cryptophanes présentent six chromophores aromatiques disposés selon un arrangement chiral. Les absorptions de type $\pi \rightarrow \pi^*$ de chacun de ces chromophores sont proches en énergies, ce qui rend impossible de les exciter de manière indépendante. L'absorption de photons par ce type de système mène à ce qu'on appelle un exciton, c'est-à-dire un état excité délocalisé sur l'ensemble des chromophores de la molécule. On parle alors de couplage excitonique entre les chromophores et de dichroïsme excitonique pour les spectres CD obtenus.

Considérons dans un premier temps, pour simplifier, le couplage excitonique entre deux chromophores X identiques placés dans un arrangement chiral au sein d'une molécule. Au lieu d'être excités chacun de manière séparée, les chromophores interagissent de façon à donner naissance à deux nouveaux états excités (α et β) d'énergies différentes (Figure 45). De manière analogue à la méthode de construction des orbitales moléculaires par combinaison linéaire des orbitales atomiques (CLOA), les deux nouveaux excités α et β peuvent être calculés par combinaisons linéaires des états excités isolés.

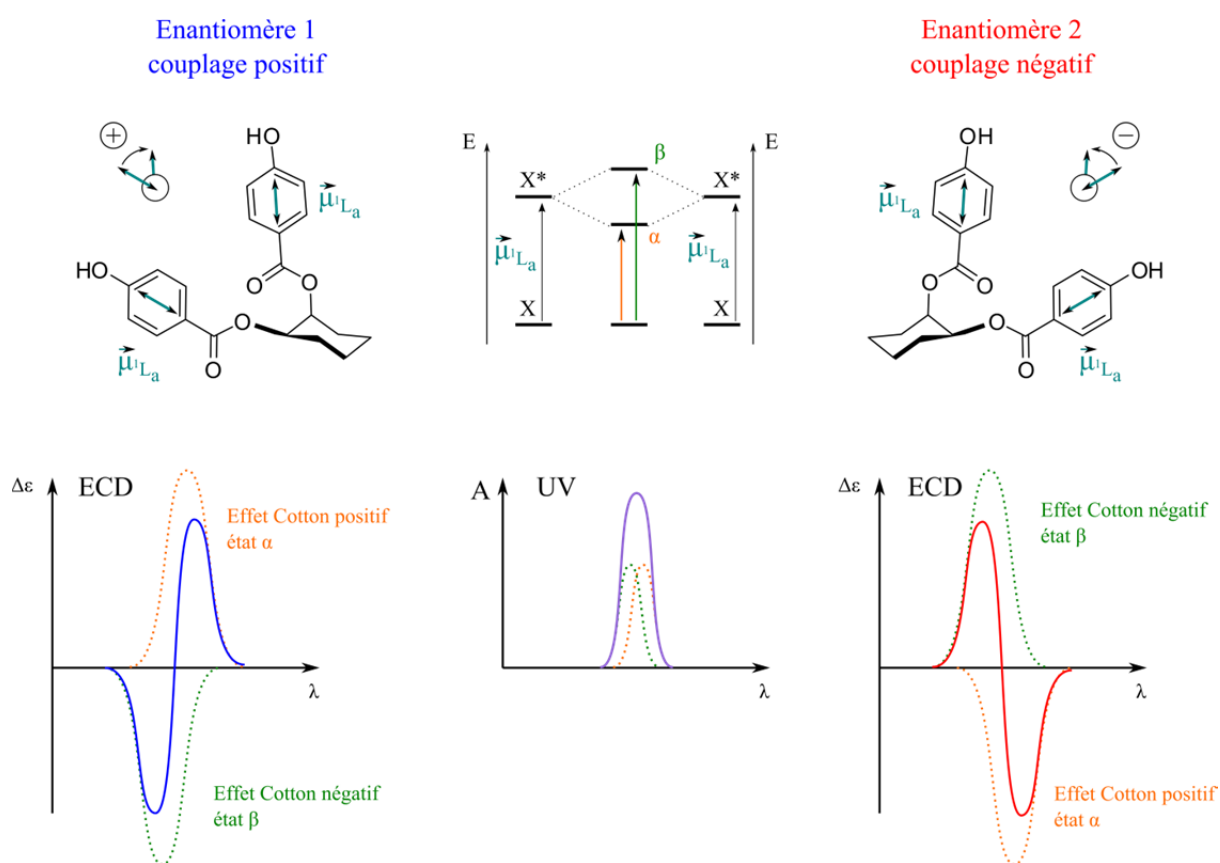


Figure 45 : Diagramme énergétique montrant la formation des deux nouveaux états excités α et β par couplage excitonique des deux chromophores X (ici deux benzoates). Les couplages obtenus pour chaque énantiomère sont représentés. Ainsi que les spectres ECD correspondants. Au centre, le spectre UV, obtenu en lumière non polarisée.^{27,154}

Les deux nouveaux états excités ayant des énergies différentes, les absorptions menant à chacun de ces états se font à des longueurs d'onde différentes. Pour une irradiation de l'échantillon par une lumière

non polarisée, les deux absorptions sont positives et s'additionnent pour donner un spectre UV présentant une seule bande *totale* d'intensité double (spectre UV en bas au milieu de la figure 45). En revanche, pour une expérience de dichroïsme circulaire, les deux absorptions mènent à l'obtention de deux bandes avec des effets Cotton de signes opposés. L'alternance des signes des effets Cotton est donnée par la position relative des chromophores. On retrouve ainsi que pour deux énantiomères, pour lesquels la position relative des chromophores est inversée, les spectres obtenus sont identiques mais de signes opposés (spectres ECD en bas de la figure 45).

Pour analyser des systèmes plus complexes présentant plus de deux chromophores, comme les cryptophanes, il est possible, en première approche, de traiter le système comme une somme de couplage entre paires de chromophores. Cette approche, bien que fortement simplificatrice, permet d'obtenir des expressions au premier ordre des grandeurs physiques recherchées. Toutefois, le développement des techniques de calculs de chimie quantique comme la TD-DFT permettent à présent de traiter le système dans sa globalité et d'obtenir des prédictions plus précises des spectres théoriques. Pour les systèmes plus complexes, l'allure des spectres présentés plus haut est conservée, bien qu'on ne retrouve pas toujours une alternance de signe dans les bandes totales observées. La comparaison entre les données expérimentales et les simulations théoriques permet, ici encore, de déterminer les configurations absolues des molécules analysées.

Après avoir proposé un modèle permettant d'interpréter les spectres ECD pour les unités CTB isolées,¹⁵⁵ André Collet et ses collaborateurs ont rationalisé les résultats obtenus pour les cryptophanes de symétrie D_3 . La figure 46 montre le spectre ECD du (+)-cryptophane A énantiopur¹⁵⁶ dans le dioxane.¹⁵⁷

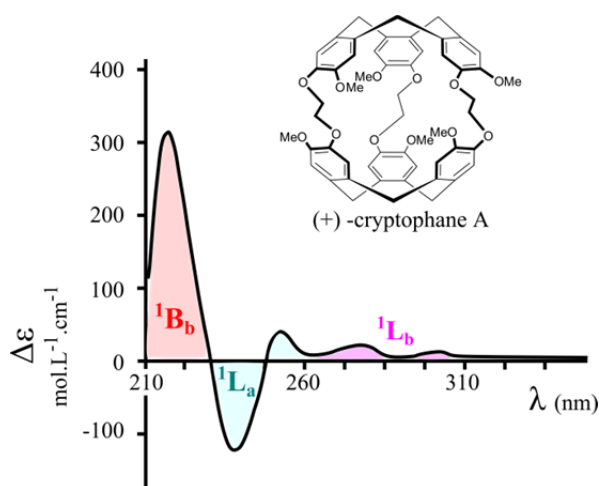


Figure 46 : Spectre ECD du (+)-cryptophane A dans le 1,4-dioxane.¹⁵⁶ Le spectre fait apparaître une bande à effet Cotton positif vers 217 nm correspondant à la transition autorisée de symétrie ${}^1A \rightarrow {}^1B_b$ des cycles benzéniques. Les deux transitions interdites de symétrie ${}^1A \rightarrow {}^1L_a$, et ${}^1A \rightarrow {}^1L_b$ se voient, quant à elles, pour des longueurs d'onde plus élevées.

Le spectre montre la présence d'une bande à effet Cotton positif correspondant aux états excitoniques issus des transitions $^1A \rightarrow ^1B_b$, puis une alternance de bande d'effet Cotton négatif puis positif pour les états excitoniques issus des transitions $^1A \rightarrow ^1L_a$ et, enfin, une série de deux bandes à effet Cotton positif pour les états excitoniques issus des transitions $^1A \rightarrow ^1L_b$. Plus récemment, T. Brotin et T. Buffeteau ont fait appel à des calculs de TD-DFT pour interpréter les spectres ECD des cryptophanes de symétrie C_1 .¹⁵⁸ Les spectres théoriques sont obtenus en tenant compte de la géométrie complète de la molécule, ainsi, en plus de la configuration du cryptophane, une bonne corrélation entre expérience et théorie permet d'obtenir de précieuses informations sur les conformations adoptées par la molécule en solution.¹⁴⁹

ii. Spectres VCD des cryptophanes

Nous avons pour l'instant vu les spectres de dichroïsme obtenus en étudiant les transitions électroniques des molécules, cependant, des spectres comparables peuvent être enregistrés en éclairant l'échantillon avec une source lumineuse correspondant à un rayonnement infra-rouge. Les spectres obtenus reflètent alors non plus des transitions électroniques, mais des transitions vibrationnelles. Cette technique porte le nom de dichroïsme circulaire vibrationnel (VCD) et présente l'avantage de permettre des corrélations plus précises entre théorie et expérience, car les modèles théoriques simulant les spectres infra-rouge sont plus fiables que ceux simulant les spectres UV.¹⁴⁸ En effet, il est plus simple de modéliser les transitions vibrationnelles qui ne nécessitent pas de calculer les orbitales moléculaires de la molécule. Cette méthode permet seule, ou en combinaison avec les spectres ECD, de déterminer la configuration du cryptophane étudié.^{159,160}

IV.2.c. Étude de la complexation des cations métalliques dans les dérivés phénoliques des cryptophanes

Lors de l'étude de la complexation des cations, les spectres de dichroïsme circulaire (ECD et VCD) permettent d'obtenir des informations quant à la géométrie de la molécule, en particulier sur les conformations adoptées par les chaînes pontantes du cryptophane étudié.

i. Le cas du césium

Le césium est un cas intéressant, car, après les premières études, il n'était pas évident d'affirmer que ce dernier était bien encapsulé dans la cage.¹⁴⁸ Les premières études de dichroïsme circulaire du dérivé hexa-phénolique du cryptophane A avaient pour but d'étudier la complexation de petites molécules comme le chloroforme ou le dichlorométhane. Les analyses étaient menées en milieu aqueux basique afin de rendre le cryptophane hydrosoluble. Plusieurs hydroxydes étaient utilisés pour rendre le milieu basique : LiOH, NaOH, KOH et CsOH. Tandis que les spectres ECD des cages solubilisées dans les solutions de LiOH et NaOH montraient de grandes évolutions lors de l'ajout de chloroforme ou de dichlorométhane (Figure 47, à gauche), ceux des cryptophanes en solution dans KOH et CsOH ne

montraient que très peu d'évolution (Figure 47, à droite). Dans le cas des contre-ions lithium et sodium, les évolutions observées pour les signaux ECD (et VCD) ont pu être rationalisées par les simulations théoriques. En l'absence d'invité (chloroforme ou dichlorométhane), la cage est « vide » et cherche à réduire sa cavité en adoptant une conformation tout-gauche au niveau des chaînes. En revanche, lorsqu'un invité est ajouté à la solution, en particulier pour le « gros » chloroforme qui a un volume de van der Waals de $72,2 \text{ \AA}^3$, la cage cherche à augmenter la taille de sa cavité en adoptant cette fois des conformations tout-trans au niveau des chaînes. Ainsi la variation des signaux ECD témoigne de la complexation au sein du cryptophane du substrat ajouté à la solution.

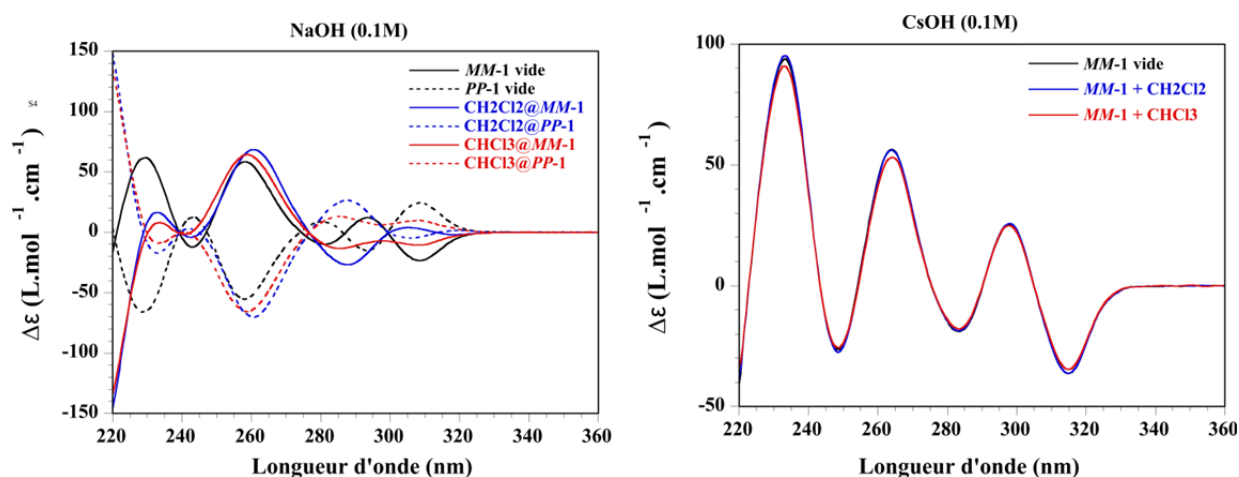


Figure 47 : À gauche : spectres ECD du cryptophane A hexa OH en solution dans NaOH. Les spectres sont enregistrés pour le cryptophane seul (en noir), en présence de dichlorométhane (en bleu) et en présence de chloroforme (en rouge). À droite : les mêmes spectres sont enregistrés pour le cryptophane dans une solution à 0,1M de CsOH.

L'absence de changements conformationnels pour les cryptophanes dans les solutions de CsOH et KOH semblaient alors indiquer que les cations Cs^+ et K^+ empêchaient la complexation du chloroforme et du dichlorométhane. La première hypothèse a été de dire que ces cations venaient obstruer les « fenêtres » d'accès à la cavité. Cependant, cette hypothèse a été revue. En effet, les deux cations Cs^+ et K^+ n'obstruent pas l'entrée de la cavité mais forment avec le cryptophane $[\text{222}](\text{OH})_6$ des complexes bien plus stables que le chloroforme ou le dichlorométhane.¹⁴⁹ Les affinités des dérivés penta ou hexa-hydroxyles du cryptophane A envers le césium sont tellement grandes qu'il faut se placer à des concentrations très faibles en cation pour observer le phénomène de complexation sur les spectres de dichroïsme.¹⁵⁰

La figure 48 montre les spectres obtenus en utilisant des quantités sub-stœchiométriques d'hydroxyde de césium par rapport au cryptophane étudié. Les spectres de gauche correspondent aux différents ajouts d'hydroxyde de césium en partant du cryptophane solubilisé dans une solution aqueuse de LiOH à 0,1M, tandis que ceux de droite traduisent la même expérience, mais en partant d'une solution aqueuse saturée en chloroforme.

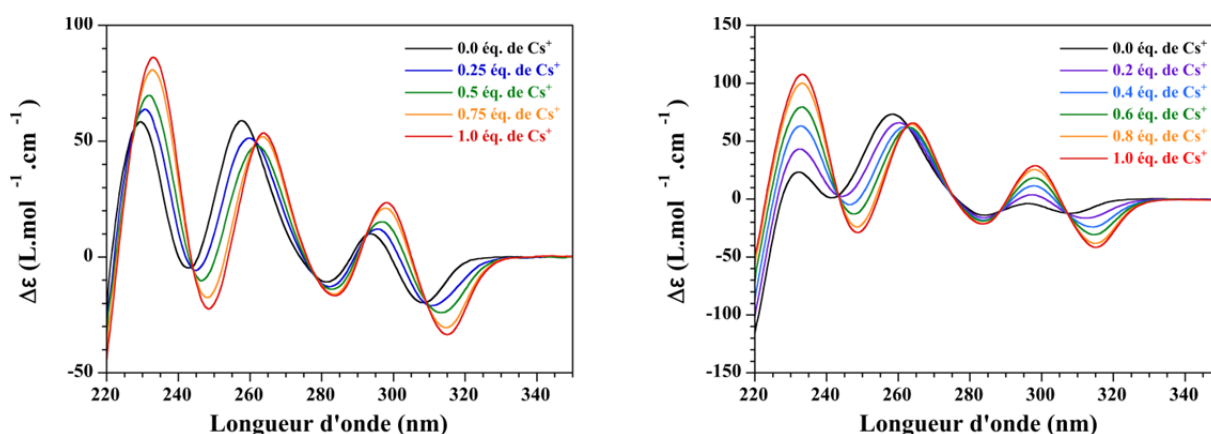


Figure 48 : À gauche : spectres ECD du dérivé hexahydroxyle du cryptophane A énantiopur dans une solution aqueuse de LiOH (0,1 M) à laquelle sont ajoutées différentes quantités de CsOH. Les équivalents mentionnés se rapportant aux quantités relatives de CsOH et de molécules cage. À droite : la même expérience est réalisée mais en partant d'une solution aqueuse de LiOH (0,1 M) saturée en chloroforme.¹⁵⁰

Dans les deux cas, l'introduction du cation césium induit de fortes variations de signal, ce qui est un premier indice d'une complexation. Par ailleurs, les courbes présentent des points isobestiques, ce qui confirme l'apparition d'une nouvelle espèce dans le milieu (le complexe $\text{Cs}^+@$ cryptophane). La principale différence entre les deux expériences est visible au niveau des transitions $^1\text{A} \rightarrow ^1\text{B}_b$ (en dessous de 240 nm), pour lesquelles les variations sont de bien plus grande amplitude lors de l'utilisation d'une solution saturée en chloroforme. Cette observation met de nouveau en évidence le grand changement conformationnel qui se déroule lorsque la cage s'adapte pour passer d'un gros substrat chloroforme ($72,2 \text{ \AA}^3$) où les chaînes sont en conformation tout-trans à un substrat Cs^+ plus petit ($19,5 \text{ \AA}^3$) pour lequel les chaînes adoptent une conformation tout-gauche.

Ces expériences ont permis de montrer que le dichroïsme circulaire électronique pouvait être utilisé pour détecter des concentrations sub-micromolaires de Cs^+ en solution aqueuse.¹⁵⁰ Devant les très fortes affinités observées pour le Cs^+ , et par la suite pour le cation thallium Tl^+ ,¹⁵¹ des mesures des paramètres thermodynamiques mis en jeu lors de la complexation ont été effectuées par calorimétrie.

ii. Étude des paramètres thermodynamiques par titration calorimétrique isotherme (ITC)

Les paramètres thermodynamiques d'une réaction de complexation peuvent être calculés à l'aide d'expérience de titration calorimétrique isotherme (ITC). Les courbes obtenues par ajouts successifs de substrat à une solution contenant le cryptophane étudié permettent, par le biais d'une modélisation, l'accès aux grandeurs caractéristiques de la réaction comme l'enthalpie libre, l'enthalpie, l'entropie, la constante d'équilibre et la stœchiométrie du complexe formé.

L'étude calorimétrique des complexes formés entre les dérivés phénoliques hydrosolubles des cryptophanes et les cations métalliques ont permis l'accès aux grandeurs regroupées dans le tableau de

la figure 49. Les valeurs présentées ont été enregistrées à des températures différentes, celles-ci sont précisées pour permettre des comparaisons pertinentes. Les affinités des cryptophanes étudiés envers les cations Tl^+ et Cs^+ sont trop grandes pour être mesurées par un titrage calorimétrique direct. Il devient nécessaire de réaliser une expérience de compétition avec un autre cation dont les caractéristiques de complexation sont étudiées par ailleurs. Les expériences de compétition ont été menées en utilisant le rubidium Rb^+ comme compétiteur.

Cryptophane	cation	K	T(K)	ref
[222](OH) ₆	K^+	1790	278	150
	Rb^+	$1,9 \cdot 10^6$	278	150
	Cs^+	$5,9 \cdot 10^9$	278	150
	Cs^+	$2,7 \cdot 10^9$	298	152
	Tl^+	$5,0 \cdot 10^{10}$	298	152
[222](OH) ₅	K^+	350	278	150
	Rb^+	$4,2 \cdot 10^5$	278	150
	Cs^+	$2,1 \cdot 10^9$	278	150
	Cs^+	$3,80 \cdot 10^8$	298	151
	Tl^+	$2,39 \cdot 10^9$	298	151
[223](OH) ₆	Cs^+	$1,2 \cdot 10^9$	298	152
	Tl^+	$6,6 \cdot 10^9$	298	152
[233](OH) ₆	Cs^+	$4,1 \cdot 10^7$	298	152
	Tl^+	$3,7 \cdot 10^8$	298	152

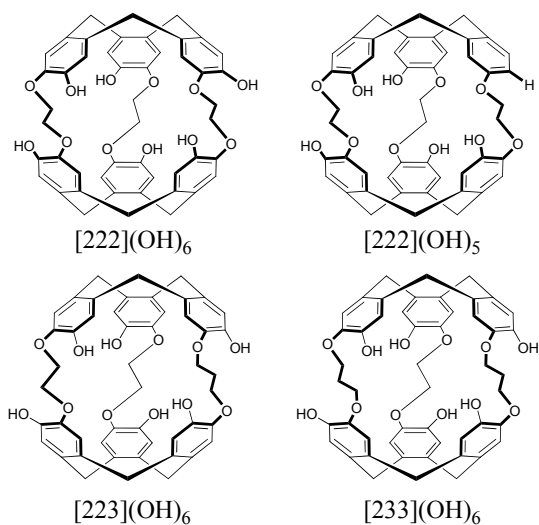


Figure 49 : À gauche : tableau présentant les valeurs des constantes d'association des complexes entre 4 cryptophanes différents solubilisés dans des solutions aqueuses de LiOH à 0,1 M et un ensemble de cations métalliques obtenues par ITC. Pour les cations Cs^+ et Tl^+ , les valeurs sont obtenues à l'aide d'expérience de compétition avec le rubidium Rb^+ . À droite : les structures des différents cryptophanes utilisés.

Les constantes d'association mesurées pour les cryptophanes [222](OH)₅ et [222](OH)₆ montrent une bonne sélectivité de ces hôtes pour les cations Cs^+ et Tl^+ par rapport aux cations rubidium et potassium. Une tendance peut également être observée en faveur de la complexation du thallium par rapport au césium. Cette tendance est confirmée par les mesures effectuées pour les cryptophanes [223](OH)₆ et [233](OH)₆. L'influence de la taille du cryptophane sur les constantes d'association du césium et du thallium peut également être obtenue en comparant les mesures pour les cryptophanes [222](OH)₆, [223](OH)₆ et [233](OH)₆. Au bilan, ces études montrent que les meilleures constantes d'association sont obtenues en maximisant le nombre de fonctions phénolates et en utilisant des cryptophanes de type [222] ou [223].

Chapitre 1: Bibliographie

Une dernière preuve de l'encapsulation de ces deux cations au sein de la cavité des cryptophanes a été amenée par la réalisation de spectres RMN des espèces encapsulées. Les résultats obtenus sont présentés par la suite.

iii. Étude de l'encapsulation par RMN du ^{133}Cs et du ^{205}Tl

La RMN césium est basée sur l'étude du noyau de ^{133}Cs , seul isotope stable du césium. Celui-ci présente un spin nucléaire de 7/2 et un faible moment quadrupolaire qui ne perturbe pas la détection, les signaux restant suffisamment fins. La RMN du ^{133}Cs a été utilisée à plusieurs reprises pour démontrer la complexation du césium au sein de diverses molécules hôtes comme des calixarènes.^{161,162} Le premier spectre RMN du ^{133}Cs enregistré pour un cation Cs^+ encapsulé dans un cryptophane est rapporté en 2012 pour les cryptophanes $[222](\text{OH})_5$ et $[222](\text{OH})_6$.¹⁵⁰ La figure 50 montre les spectres RMN ^{133}Cs obtenus pour le cation césium encapsulé dans chacune de ces molécules hôtes.

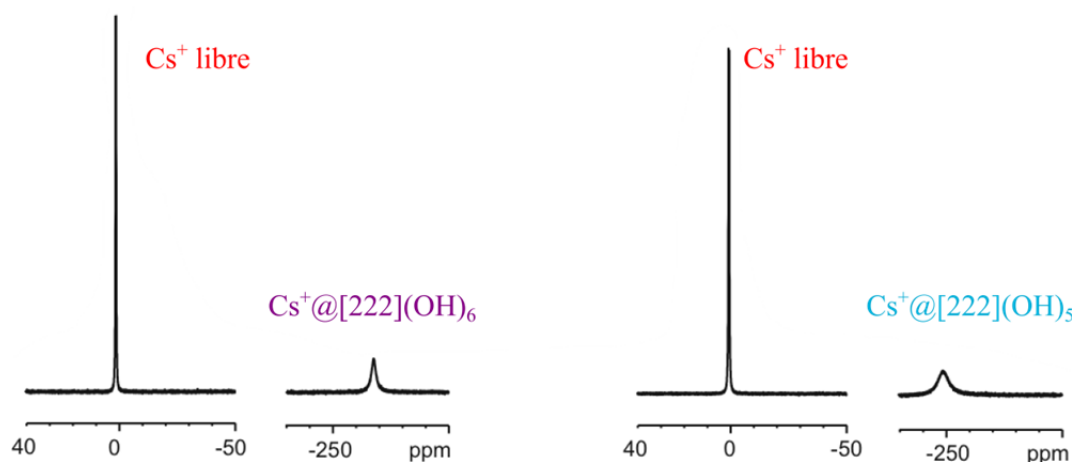


Figure 50 : À gauche : spectre RMN ^{133}Cs du cryptophane $[222](\text{OH})_6$ dans une solution de $\text{CsOD}/\text{D}_2\text{O}$ (0,1M) à laquelle est ajoutée un peu de CsOH . À droite : spectre RMN ^{133}Cs du cryptophane $[222](\text{OH})_5$ dans les mêmes conditions.

Chacun de ces spectres RMN montre clairement deux signaux pour le ^{133}Cs . Le premier est trouvé autour de 0 ppm et correspond au Cs^+ libre dans la solution aqueuse, tandis qu'un second signal est obtenu pour des valeurs très fortement négatives de déplacement chimique et correspondent aux environnements chimiques respectifs des cations Cs^+ encapsulés dans chacun des cryptophanes étudiés. L'obtention de signaux très blindés confirme que, dans chaque cas, le cation est bien encapsulé à l'intérieur de la cavité et subit l'influence des cônes de blindage des six groupements aromatiques. On peut également en conclure que le régime d'entrée et de sortie du césium est lent par rapport à l'échelle de temps de la RMN du ^{133}Cs .

Des études RMN du ^{133}Cs ont par la suite été menées sur les complexes formés entre le cation césium et les différents cryptophanes phénoliques synthétisés.^{151,152} Des résultats comparables sont obtenus pour les différentes tailles de cavités.

Pour le cation thallium, la mise en place d'une expérience RMN est moins aisée. En effet, le plus simple est d'étudier le ^{205}Tl qui est l'isotope le plus abondant du thallium. Ce dernier présente un spin $\frac{1}{2}$ mais une fréquence de résonance de 173 MHz sur un appareil de type 300 MHz (c'est-à-dire pour un champ B_0 de 7 T). Or, une sonde classique permet de détecter les noyaux dont la fréquence de résonance est comprise entre celle du ^{31}P et du ^{15}N , c'est-à-dire entre 30 MHz et 121 MHz sur un 300 MHz. Une solution pour parvenir à réaliser les mesures est alors d'utiliser une sonde prévue pour un appareil de type 500 MHz (soit 11.7 T), qui permet une détection entre 50 MHz et 202 MHz en l'adaptant sur un appareil de type 300 MHz. Ce type de mise en œuvre a permis d'enregistrer les spectres RMN du ^{205}Tl des cations encapsulés dans les cryptophanes. L'utilisation de la RMN du ^{205}Tl avait précédemment été mise à profit pour caractériser des complexes entre le Tl^+ et plusieurs molécules hôtes différentes dont les calixarènes^{163,164} ou les éthers couronnes.¹⁶⁵

L'encapsulation d'un cation Tl^+ au sein d'un cryptophane crée un signal du ^{205}Tl encapsulé qui présente un écart de plus de 850 ppm avec celui du cation thallium libre en solution, ce qui permet une détection particulièrement aisée du complexe. La figure 51 montre ainsi le spectre RMN obtenu pour le cryptophane $[222](\text{OH})_5$ dans une solution de $\text{NaOD}/\text{D}_2\text{O}$ (0,1M) en présence de TlOAc . L'écart de déplacement chimique entre le Tl^+ libre et le Tl^+ encapsulé est tel que l'obtention de ce spectre RMN a nécessité deux acquisitions séparées afin de pouvoir changer la porteuse utilisée pour détecter chacun de ces signaux.

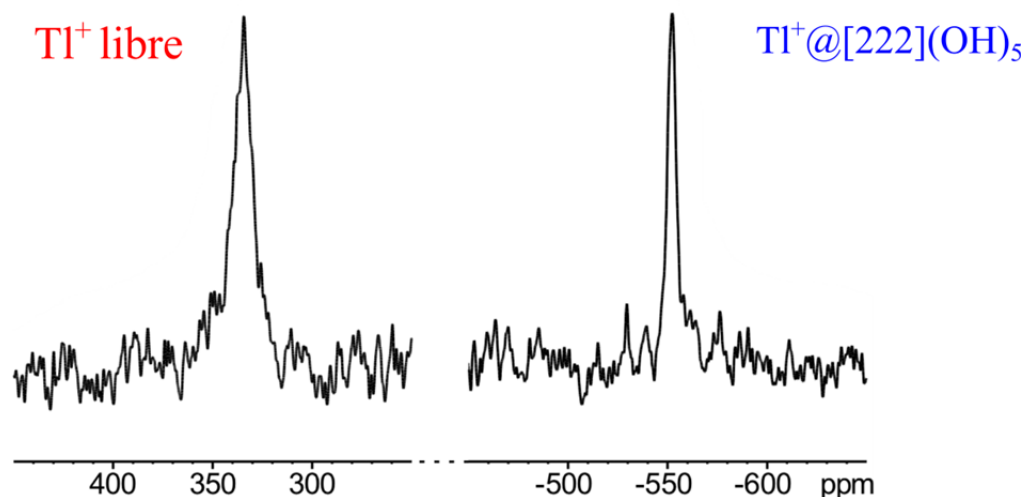


Figure 51 : Spectre RMN du ^{205}Tl enregistré à 298 K pour le cryptophane $[222](\text{OH})_5$ dans une solution de $\text{NaOD}/\text{D}_2\text{O}$ (0,1M) en présence de TlOAc .

Ce spectre RMN montre clairement l'obtention de deux signaux distincts. Le premier est obtenu à +330 ppm et correspond au Tl^+ libre en solution, tandis que le second est observé pour -556 ppm et correspond au Tl^+ encapsulé au sein de la cavité du cryptophane $[222](\text{OH})_5$. Comme pour le césium, les autres complexes du thallium dans les différents cryptophanes phénoliques ont également été enregistrés et donnent des résultats sensiblement comparables.¹⁵²

Chapitre 1: Bibliographie

La spectroscopie RMN permet ainsi d'obtenir des informations qui viennent compléter les études ECD et ITC réalisées sur les complexes des cations Cs^+ et Tl^+ au sein des cryptophanes. Cette technique permet également d'envisager de nouveaux modes de détection de ces deux éléments toxiques. L'ensemble des résultats présentés ici montrent que les cryptophanes sont adaptés à l'encapsulation de ces cations et il paraît intéressant de tenter de mettre à profit ces propriétés de complexation pour des applications de détection ou d'extraction. Nous nous sommes intéressés à ce projet au cours de ces travaux de thèse. Les objectifs que nous nous sommes fixés, ainsi que les pistes que nous avons envisagées sont explicités par la suite.

V. Présentation des objectifs

V.1. Plateforme moléculaire pour la synthèse de biosondes au xénon 129 hyperpolarisé

Les avancées très prometteuses en matière de biosondes au xénon basées sur les cryptophanes laissent entrevoir de futures expériences *in vivo*. Cependant, afin de faire la preuve de concept, il est nécessaire de produire des quantités importantes de biosondes, ce qui reste un défi majeur à l'heure actuelle, les synthèses étant longues, fastidieuses et ne menant qu'à de faibles quantités de produit.

La très grande majorité des biosondes est, à ce jour, développée à partir du cryptophane A, à travers une monofonctionnalisation d'un des cycles aromatiques. Cette voie de synthèse souffre de cette monofonctionnalisation qui est obtenue à travers une réaction menant à un mélange statistique de produits.

Pour contourner ce problème, l'un des objectifs de cette thèse a été de développer une voie de synthèse permettant l'obtention d'une plateforme moléculaire présentant un point d'accroche de la partie biosonde non plus sur l'un des cycles aromatiques, mais sur l'un des bras pontants. Ainsi les six cycles aromatiques demeurent libres, et peuvent être fonctionnalisés par six groupements hydrosolubilisants.

Le cryptophane [223] présente de bonnes caractéristiques pour la complexation du xénon, tant au niveau thermodynamique que cinétique, il a donc été choisi comme base de la plateforme ciblée (Figure 52).

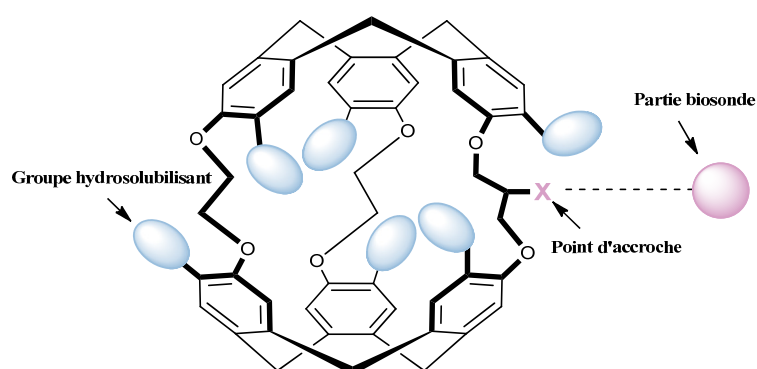


Figure 52 : Cible synthétique pour l'obtention d'une plateforme pour les biosondes au xénon.

La conception et la voie de synthèse permettant l'accès aux plateformes envisagées sont présentées au chapitre 2 de ce manuscrit. Les études en RMN du xénon hyperpolarisé menées sur les molécules obtenues sont, quant à elles, présentées au chapitre 3.

V.2. Plateformes moléculaires pour l'encapsulation des cations Cs^+ et Tl^+ en solution aqueuse

Les résultats obtenus avec les différents cryptophanes phénoliques étant particulièrement prometteurs envers les cations césium et thallium, ces systèmes constituent de bons candidats pour des applications en purification des eaux polluées par ces deux éléments. L'un des avantages de ces systèmes est qu'ils sont hydrosolubles et ne nécessiteraient pas de procédés d'extraction liquide-liquide faisant appel à de larges quantités de solvants organiques.

En vue de telles applications, il serait intéressant de greffer les cryptophanes sur un support qui pourrait alors être utilisé comme filtre. Les cryptophanes polyphénoliques étudiés jusqu'à présent ne présentent pas de fonctions permettant un tel greffage. L'objectif de cette thèse a donc également été de synthétiser une nouvelle cage de type cryptophane présentant de bonnes propriétés de complexation envers les cations Cs^+ et Tl^+ , tout en présentant une fonction chimique supplémentaire permettant d'envisager un greffage sur un support.

Les résultats précédemment obtenus au sein du laboratoire montrent la nécessité de la présence d'un maximum de fonctions phénol, la nouvelle fonction chimique permettant le greffage ne doit donc pas être introduite sur un des cycles aromatiques mais plutôt au sur l'une des chaînes pontantes. Les caractéristiques de complexation du cryptophane $[\text{223}](\text{OH})_6$ étant satisfaisantes, il a constitué la base de la cible visée (Figure 53).

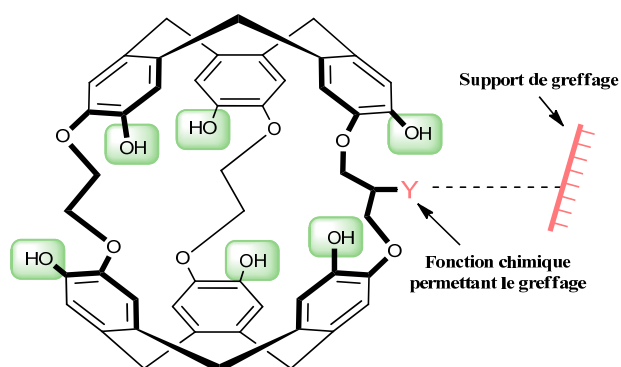


Figure 53 : Cible synthétique pour la complexation des cations Cs^+ et Tl^+ .

La conception et la voie de synthèse permettant l'accès à cette plateforme sont présentées au chapitre 2 de ce manuscrit. Les travaux réalisés pour l'obtention de cette molécule de manière énantiopure, ainsi que les études portant sur l'encapsulation des cations Cs^+ et Tl^+ au sein de sa cavité constituent quant à eux l'objet du chapitre 4.

Chapitre 2: conception et synthèse de cryptophanes pour la complexation du xénon et des cations métalliques

I. Conception des cibles synthétiques

Au cours du premier chapitre, nous avons présenté les grands principes qui régissent la chimie supramoléculaire et les avancées réalisées dans les champs d'applications que sont les biosondes pour l'IRM du xénon 129 hyperpolarisé et la complexation de cations métalliques toxiques comme le thallium ou le césium. Cela nous a permis d'énoncer les objectifs de cette thèse pour ces deux champs d'application. Pour atteindre chacun de ces objectifs, nous avons choisi de développer de nouveaux cryptophanes de type [223] qui présentent un point d'accroche latéral au niveau d'une des chaînes pontantes.

La conception de tels cryptophanes passe tout d'abord par le choix de la position du point d'accroche latéral. Le choix de l'introduction de ce point d'accroche au niveau du carbone central de la chaîne pontante contenant trois atomes de carbone s'impose très clairement par souci de simplification du système. En effet, l'intérêt majeur d'introduire une nouvelle fonction chimique sur cette position est que cela ne crée pas de nouveau centre stéréogène (Figure 54). Toute autre position entraînerait la création d'un carbone asymétrique sur la molécule, ce qui rendrait l'étude et les caractérisations des composés bien plus complexes.

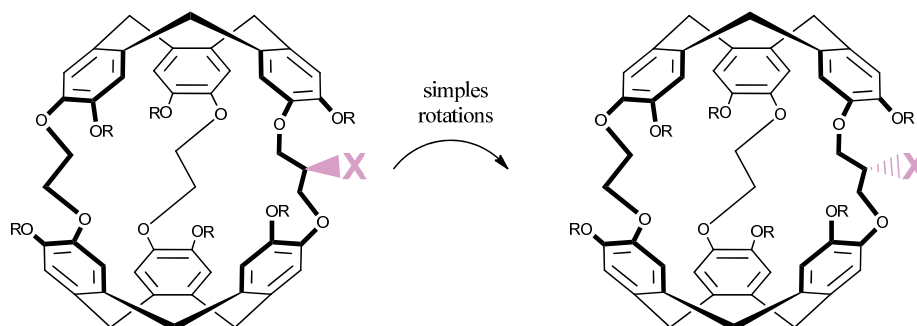


Figure 54 : Structure de la plateforme cryptophane basée sur le cryptophane [223] et présentant une fonction chimique X au centre du bras contenant trois atomes de carbone. L'introduction de la fonction X ne rend pas le carbone asymétrique puisque les deux positions avant et arrière peuvent être interchangées par de simples rotations de la molécule.

Les observations faites sur la figure 54 ne sont valables qu'avec le cryptophane de configuration *anti*, le cryptophane *syn* mènerait quant à lui à la création d'un centre stéréogène. Cependant, comme nous l'avons mentionné dans le chapitre précédent, les synthèses de cryptophanes mènent généralement à l'obtention majoritaire de la configuration *anti*. Il pourrait paraître intéressant de considérer un cryptophane [233] qui permettrait d'introduire deux fonctions d'accroche latérales, chacun des points d'accroche serait alors stéréogène, ce qui conduirait à l'obtention de nombreux diastéréoisomères et à une grande complexification du système, tant au niveau synthèse qu'au niveau des caractérisations.

Le cas de figure le plus simple est ainsi un cryptophane [223] de configuration *anti* présentant un seul point d'accroche au centre de la chaîne pontante contenant trois atomes de carbone.

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

Il faut par la suite affiner la conception des cryptophanes en précisant la nature des groupements R représentés sur la figure 54. Pour cela il faut prendre en compte le cahier des charges établi selon l'application visée.

I.1. Conception de cryptophanes pour la complexation des cations Cs^+ et Tl^+

Les travaux antérieurs ont montré que les constantes d'association entre les cations Cs^+ ou Tl^+ et les cryptophanes phénoliques sont d'autant plus grandes que le nombre de groupements phénol est important.¹⁵⁰ Ainsi, la cible visée est un cryptophane $[\text{223}](\text{OH})_6$ avec une fonction X latérale. La fonction chimique latérale doit, quant à elle, présenter une réactivité différente des phénols pour permettre sa fonctionnalisation. Nous avons choisi d'introduire une fonction alcool secondaire qui peut être différenciée des phénols et peut être alkylée pour introduire un bras d'accroche par la suite. La première cible synthétique que nous avons établie est ainsi le cryptophane **1** représenté en figure 55.

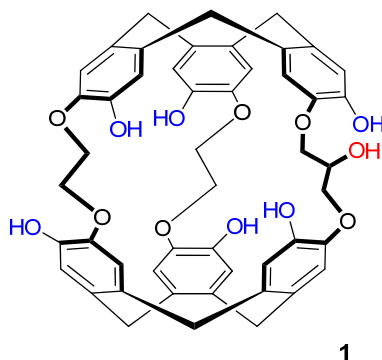


Figure 55 : Structure de la première cible synthétique présentant six fonctions phénol et une fonction alcool secondaire latérale.

La différenciation possible entre les réactivités des fonctions phénol et de l'alcool secondaire permet par ailleurs d'envisager de fonctionnaliser les fonctions phénol pour introduire des groupes hydrosolubilisants comme nous l'avons discuté dans le chapitre précédent. Le cryptophane perdrait alors sa capacité à complexer les cations métalliques, mais permettrait de se diriger vers des applications d'encapsulation du xénon. Le composé **1** apparaît alors comme un précurseur intéressant pour les cibles synthétiques dédiées aux applications aux biosondes pour l'IRM du xénon ^{129}Xe hyperpolarisé.

I.2. Conception de plateformes pour les biosondes pour l'IRM du xénon ^{129}Xe hyperpolarisé

Pour obtenir des cryptophanes pouvant servir de plateformes pour les biosondes au xénon, il est indispensable d'introduire des groupements hydrosolubilisants sur les positions aromatiques. Cela

permet dans le même temps d'optimiser la solubilité de la biosonde dans les milieux biologiques et de masquer la lipophilie du cryptophane réduisant les chances d'observer des comportements micellaires ou encore des interactions avec les parois lipidiques des cellules. Nous avons présenté dans le chapitre précédent plusieurs manières de rendre les cryptophanes hydrosolubles. Pour cette thèse, nous avons décidé de mettre en œuvre deux de ces solutions. La première est la stratégie classique d'introduction de fonctions carboxylates. Celle-ci est intéressante et sa mise en œuvre bien connue, bien qu'elle mène à une hydrosolubilisation dépendante du pH. La seconde possibilité, pour s'affranchir d'une sensibilité au pH, est d'introduire des groupements polyéthylèneglycol (PEG) sur les positions aromatiques. Dans les deux cas, le cryptophane **1** peut être utilisé comme molécule de départ pour mener aux cibles synthétiques **2** et **3** représentées sur la figure 56.

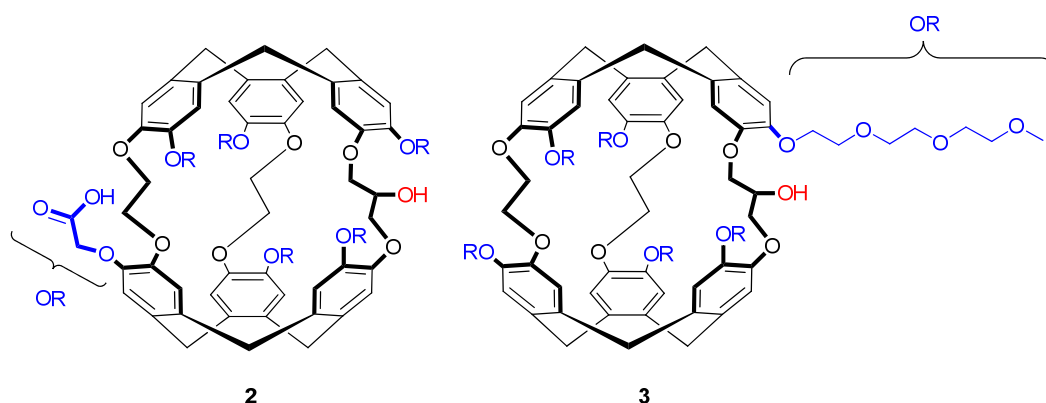


Figure 56 : Structure des cryptophanes hydrosolubles **2** et **3** qui constituent les premières cibles synthétiques pour l'obtention de plateformes pour les biosondes au xénon 129 hyperpolarisé.

Le cryptophane **1** a donc constitué la première cible synthétique de cette thèse. Dans la suite de ce chapitre, nous décrirons l'analyse rétrosynthétique d'accès à ce composé, puis les synthèses mises en place pour l'obtenir. Nous aborderons enfin l'obtention des plateformes **2** et **3** et les modifications faites à celles-ci.

II. Analyse rétrosynthétique de l'accès au cryptophane 1

Le cryptophane **1** étant de type [223], sa synthèse suppose la mise en œuvre de la méthode template qui permet d'introduire des chaînes pontantes de natures différentes. La construction classique d'un squelette [223](OH)₆ étant connue,³⁴ la principale question est de savoir comment introduire la fonction alcool latérale. Il semble difficile d'introduire cette dernière une fois le cryptophane [223] classique formé. Il faut donc que l'alcool soit amené par le substrat utilisé pour construire la troisième chaîne pontante. L'analyse rétrosynthétique présentée en figure 57 illustre les synthons intermédiaires envisageables pour la synthèse de la cible **1** sous la forme d'un mélange racémique. Conformément à la stratégie classique, les six fonctions phénol sont issues de la déméthylation d'un synthon **4**

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

(également sous forme racémique), lui-même formé par alkylation de Friedel et Crafts d'un précurseur de cyclisation **5**. Ce précurseur présente déjà la fonction alcool qui nous intéresse, et le carbone portant cette fonction alcool est alors asymétrique. Il n'est pas nécessaire de contrôler la stéréochimie de ce centre puisqu'il ne sera plus asymétrique une fois le cryptophane formé. Le composé **5** sera donc synthétisé sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères. La fonction alcool du composé **5** peut être amenée par le couplage entre un époxyde **6** et un CTB diponté **7**. Pour les mêmes raisons que précédemment, la stéréochimie du composé **6** n'a pas besoin d'être contrôlée, et le composé **7** est utilisé sous forme racémique. Le composé diponté **7** est décrit dans la littérature¹⁶⁶ et est issu du couplage entre les synthons **8** et **9** qui sont eux aussi déjà connus.¹⁶⁷

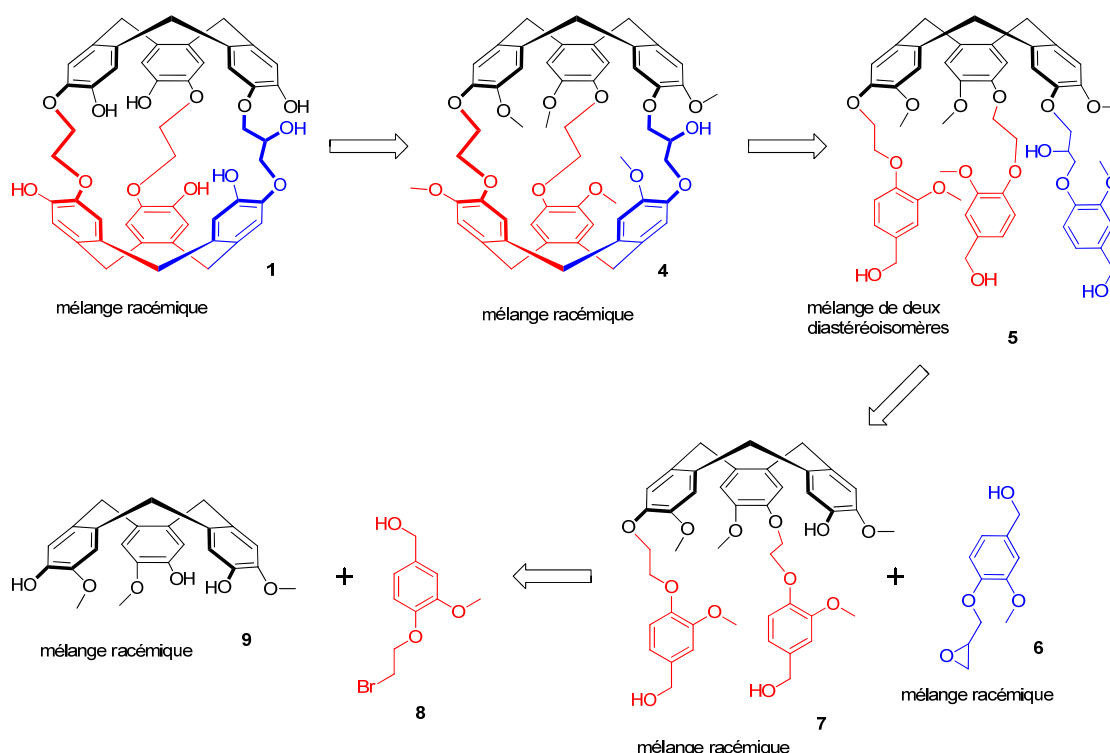


Figure 57 : Analyse rétrosynthétique d'accès à la cible **1** sous forme d'un mélange racémique. La création de la fonction alcool secondaire est assurée par l'ouverture de l'époxyde **6**.

L'accès au composé **7** étant déjà balisé, les étapes clés qu'il reste à définir sont celles du couplage avec le synthon **6**, de la cyclisation pour obtenir le cryptophane **4**, et de la déméthylation des groupements méthoxy aromatiques. Les stratégies de protection peuvent, en particulier, être diverses pour conserver la fonction alcool non réactive jusqu'à la fin de la synthèse.

III. Synthèse du cryptophane 1

Le CTB diponté **7** a été synthétisé suivant les procédures décrites dans la littérature (Figure 58).

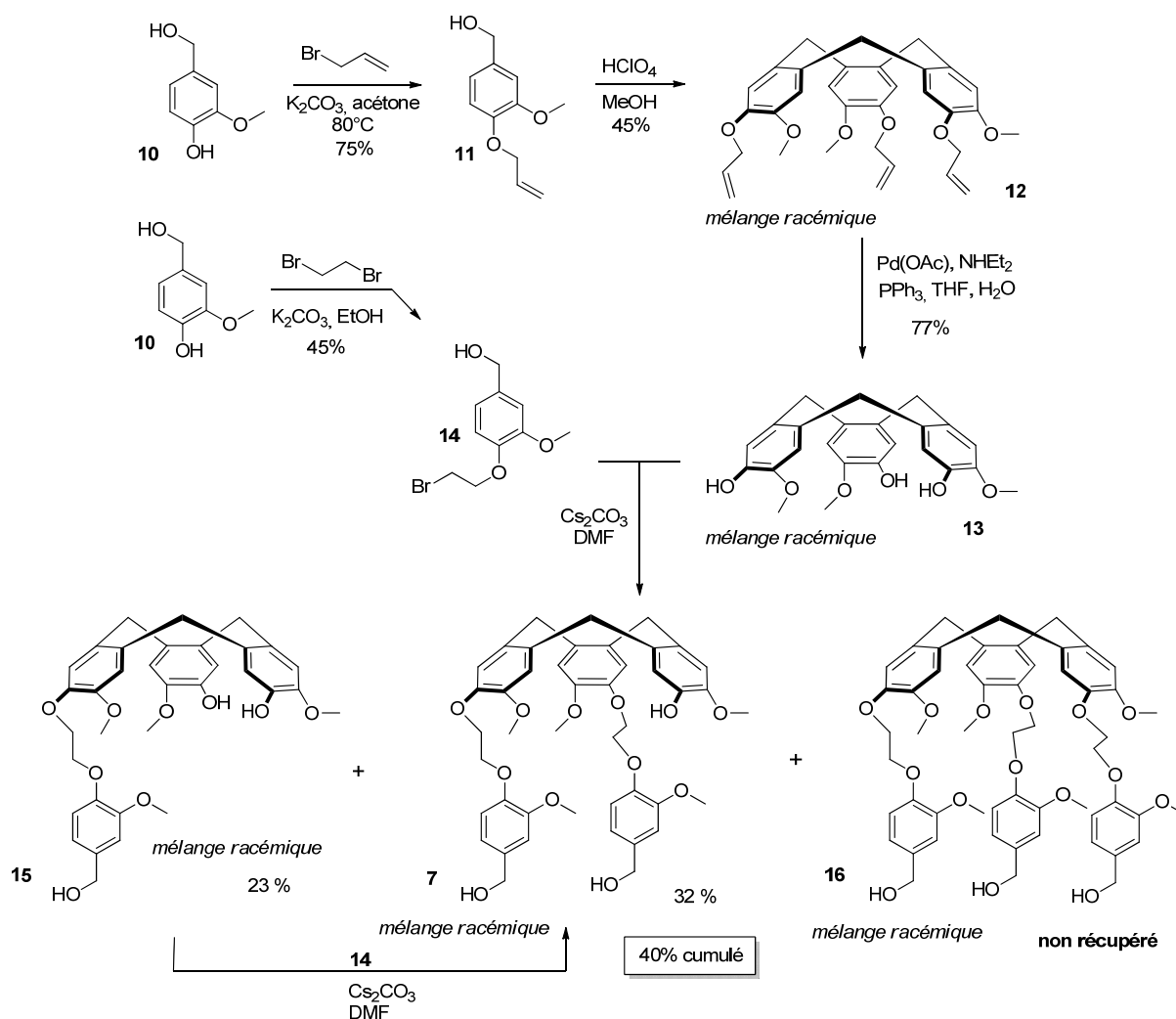


Figure 58 : Synthèse du composé diponté **7** sous forme racémique.

L'alcool vanillique **10** de départ est alkylé en présence de bromure d'allyle et de carbonate de potassium pour donner le précurseur de cyclisation **11** avec un rendement de 75%. Ce dernier réagit en présence d'acide perchlorique dans le méthanol pour former le CTB tri-allyle **12** avec un rendement de 45%. Il existe d'autres méthodes pour cette cyclisation (comme l'utilisation d'un acide de Lewis de type $\text{Sc}(\text{OTf})_3$),²² cependant, la méthode de cyclisation dans l'acide perchlorique est peu coûteuse et sa mise en œuvre aisée. C'est donc la méthode généralement préférée au laboratoire. Le composé **13** est par la suite obtenu par déprotection des fonctions allyle en présence d'acétate de palladium, de diéthylamine et de triphénylphosphine dans un mélange d'eau et de THF avec 77% de rendement. La molécule **14** est préparée en parallèle, à partir de l'alcool vanillique et du dibromoéthane en présence de carbonate de potassium. Une réaction de substitution nucléophile entre le CTB **13** et la molécule **14** permet alors de former le composé diponté recherché **7**. Lors de cette dernière réaction, un mélange statistique des composés mono- (**15**), di- (**7**) et triponté (**16**) est obtenu. Les composés mono- et dipontés sont isolés par colonne de chromatographie avec des rendements respectifs de 23 et 32%, tandis que le composé triponté n'est habituellement pas récupéré. En effet, il faudrait un temps

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

d'élution assez long et l'emploi de larges quantités de solvant pour le récupérer, ce qui ne semble pas judicieux puisqu'il peut être synthétisé de manière beaucoup plus simple en plaçant **13** en présence d'un large excès du composé bromé **14**. Le composé monoponté **15** peut par la suite être ré-engagé en présence de la molécule **14** pour fournir une quantité supplémentaire du CTB **7**, ce qui permet, au final, d'obtenir ce dernier avec un rendement cumulé de 40%. Le composé **15** peut également être conservé pour être utilisé dans d'autres synthèses de composés de type [233].

À ce stade, la question s'est posée de savoir s'il était nécessaire mettre en place une stratégie de protection pour la suite de la synthèse. En analysant le schéma de rétrosynthèse présenté à la figure 57, l'étape qui peut poser problème est celle de la cyclisation en milieu acide pour conduire à la seconde unité CTB. En effet, il existe plusieurs conditions pour ce type de cyclisation, dont les plus courantes font appel à des acides de Bronsted comme l'acide formique ou encore à des acides de Lewis comme le triflate de scandium.²² Les rendements de cyclisation dans l'acide formique (de 20 à 80%) sont généralement bien meilleurs que ceux obtenus avec le triflate de scandium (entre 20 et 30 %), le triflate de scandium est donc généralement utilisé lorsque les essais avec l'acide formique n'ont pas permis d'aboutir au produit désiré. Nous avons ainsi, dans un premier temps, envisagé une cyclisation par l'acide formique. Cependant, l'utilisation de l'acide formique concentré présentait le risque d'une déshydratation de la fonction alcool secondaire de la molécule **5** pour mener à un cryptophane ne présentant plus de point d'accroche latéral. Une stratégie de protection a ainsi été mise en place pour éviter la perte de la fonction chimique recherchée.

III.1. Stratégie de synthèse avec une cyclisation par l'acide formique

Pour éviter une déshydratation de la fonction alcool au cours de l'étape de cyclisation par l'acide formique, nous avons opté pour une protection sous forme d'un éther allylique, qui présente l'intérêt d'être stable dans ces conditions et ne crée *a priori* pas de gêne stérique pouvant poser problème pour la cyclisation de la seconde unité CTB. Cependant, la présence des alcools benzyliques sur la molécule **5** rend impossible la protection sélective de l'alcool secondaire à ce stade. Il a donc été nécessaire de démarrer par une protection des alcools benzyliques avant d'introduire la protection de l'alcool secondaire. Les exemples rapportés dans la littérature montrent que les étapes de cyclisation des CTB fonctionnent très bien avec des alcools benzyliques protégés sous forme d'acétals OTHP.²² Nous avons donc choisi ce mode de protection pour la synthèse présentée

figure 59. Les alcools benzyliques du composé diponté **7** sont protégés en présence de DHP et de PPTS pour mener au CTB **17** avec un rendement de 72%. Il est intéressant de noter qu'il n'est pas possible d'accéder au composé **17** en une seule étape à partir du CTB **13** simplement en introduisant un bras portant déjà une fonction alcool benzylique protégée. En effet, cette réaction donne de nouveau un mélange statistique de trois produits mono-, di-, et tri-substitués, mais l'absence des

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

fonctions alcools capables de former de fortes interactions avec la silice rend la séparation de ce mélange beaucoup plus difficile. Le composé **17** doit donc être obtenu en deux étapes à partir du CTB **13**. Le choix des fonctions THP est classique pour ce type de protection (car aisée à mettre en œuvre et peu onéreuse), mais complique fortement la caractérisation de cette molécule car de nombreux diastéréoisomères sont formés lors de la réaction.

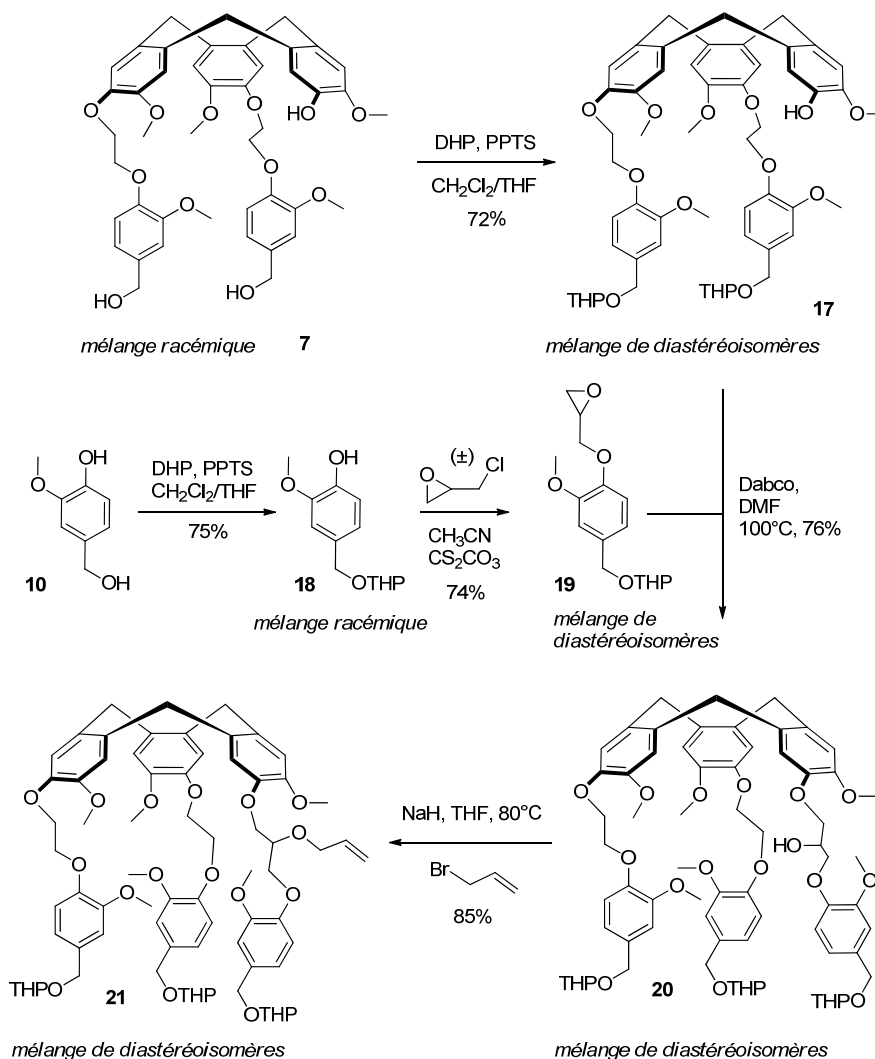


Figure 59 : Schéma de synthèse du composé triponté **21** sous la forme d'un mélange de diastéréoisomères.

En parallèle de la synthèse du composé **17**, le composé **19** est préparé en deux étapes à partir de l'alcool vanillique **10**. La première étape permet la protection de l'alcool benzylique par le DHP en présence de PPTS et fournit le phénol **18**. Ce dernier réagit ensuite par réaction de substitution nucléophile sur l'épichlorhydrine, utilisée sous forme racémique, pour mener au composé **19** sous forme d'un mélange de diastéréoisomères avec un rendement de 74%. Comme évoqué en première partie de ce chapitre, une fois le cryptophane cyclisé, le carbone portant la fonction alcool secondaire n'est pas stéréogène. Il n'est donc pas nécessaire de contrôler la configuration du carbone asymétrique formé par ouverture de l'époxyde avant cyclisation. L'épichlorhydrine a ainsi pu être utilisée sous

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

forme racémique pour former le composé **19**. Le couplage des molécules **17** et **19** en présence de Dabco dans le DMF à 100°C a par la suite mené à l'obtention du CTB **20** sous la forme d'un mélange de 32 diastéréoisomères avec un rendement de 76%.¹⁶⁸ La caractérisation de ce mélange n'est pas simple, et le spectre RMN complexe (Figure 60) ne permet pas une attribution de l'ensemble des signaux. On peut cependant voir le massif des aromatiques qui intègrent, pour 15 protons, les signaux des groupements méthoxy autour de 3,8 ppm et les signaux caractéristiques des groupes THP (superposés au signal de l'eau) entre 1,5 et 2,0 ppm. Les signaux entre 4,6 et 4,8 ppm couplés à ceux se situant entre 3,4 et 3,6 ppm sont généralement caractéristiques des protons des ponts méthylène des CTB qui donnent généralement un système AB reconnaissable. Toutefois, ils sont ici superposés aux signaux des positions benzyliques des trois bras, ce qui rend plus complexe leur attribution.

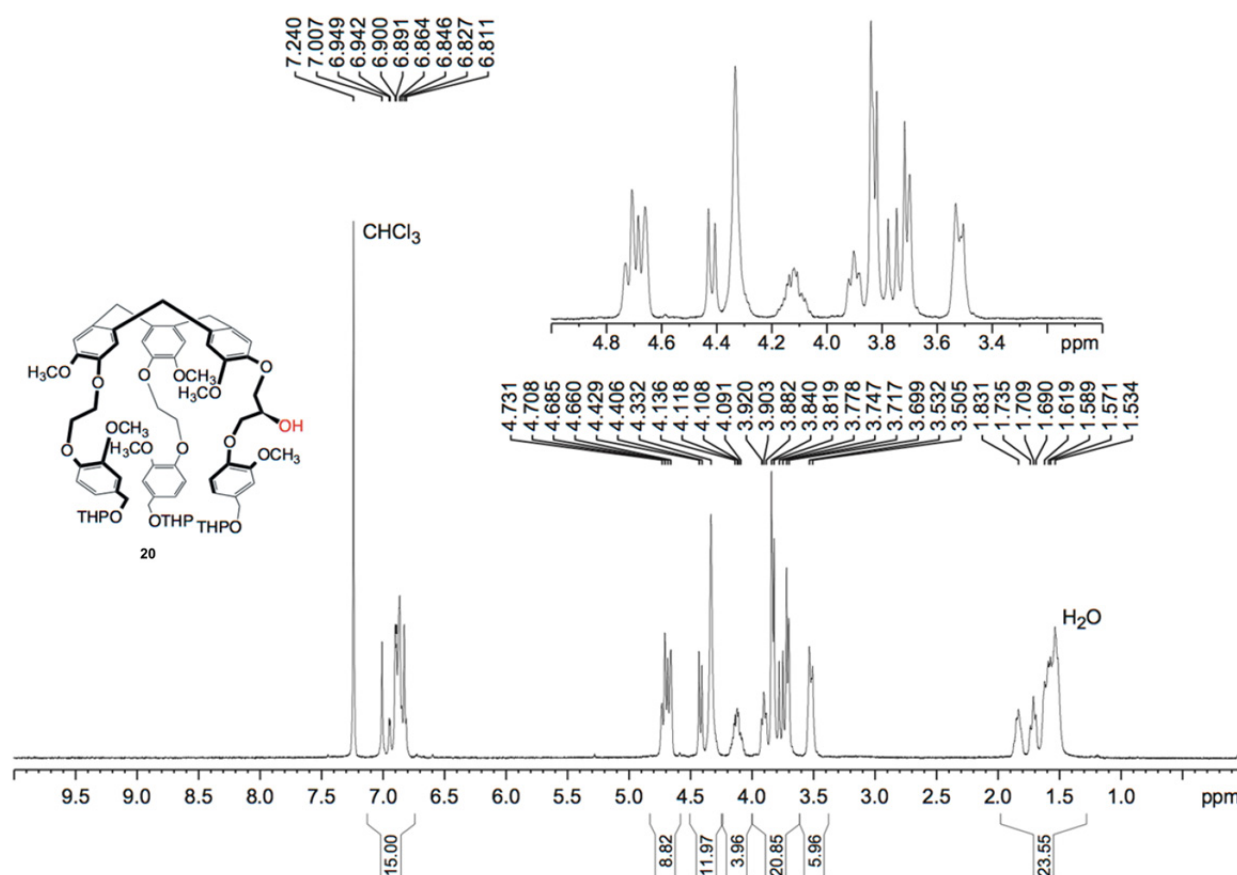


Figure 60 : Spectre RMN ^1H du composé **20** sous forme d'un mélange de 32 diastéréoisomères enregistré dans le chloroforme deutéré à 298 K.

La molécule **20** est ensuite placée en présence de bromure d'allyle et d'hydruure de sodium dans le THF pour mener au CTB **21**, dans lequel la fonction alcool centrale est protégée, avec un rendement de 85%.

La cyclisation du composé **21** a par la suite été mise en œuvre en présence d'un mélange d'acide formique et de chloroforme (V/V : 50/50) et chauffé à 60°C pendant 5 heures pour mener au

cryptophane **22**. L'utilisation de ces conditions expérimentales permet de laisser intact la fonction allyle portée par la chaîne pontante (Figure 61).

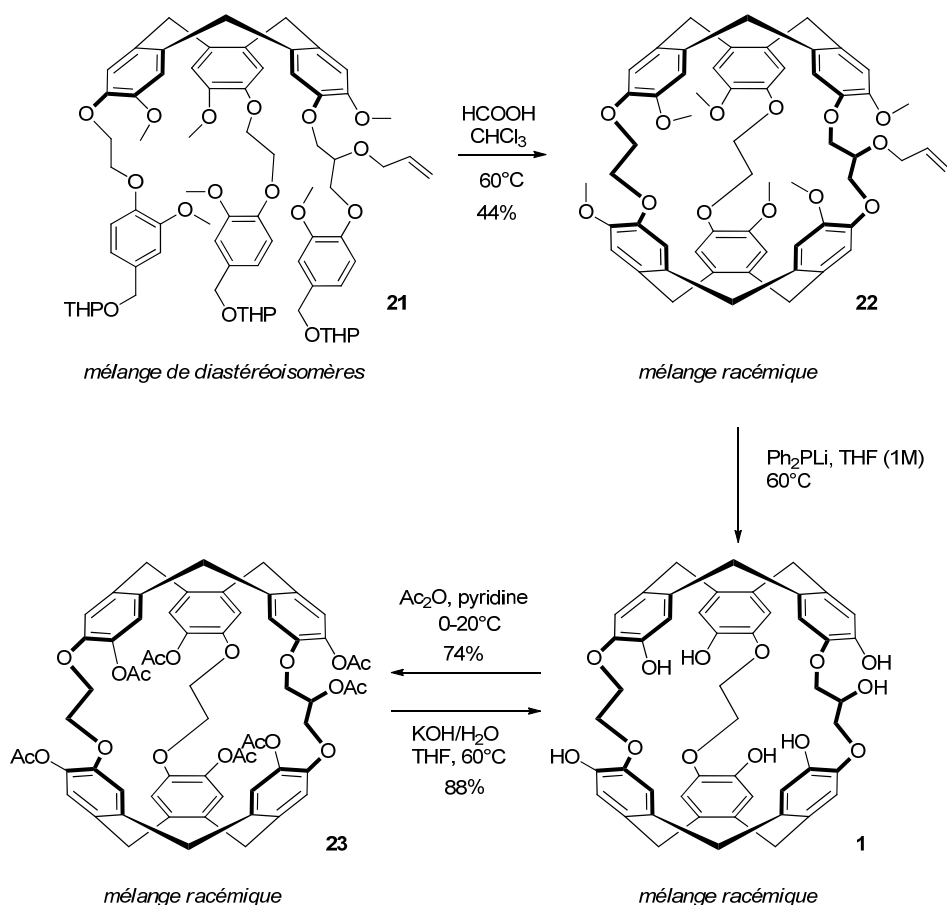


Figure 61 : Schéma de synthèse de l'obtention de la cible **1** en utilisant une cyclisation à l'acide formique.

Les rendements obtenus pour cette cyclisation varient entre 40 et 44%, ce qui est conforme aux valeurs de la littérature. À ce stade, des tentatives de déprotection de la fonction éther allylique se sont révélées infructueuses. Plusieurs conditions expérimentales ont été mises en œuvre, comme le palladium acétate en présence de PPh_3 et de diéthylamine dans le THF ou encore le tertiobutanolate de potassium dans le DMSO. Ces essais préliminaires n'ont pas été fructueux, le composé **22** a donc été engagé directement dans les conditions classiques de déméthylation, c'est-à-dire une solution molaire diphénylphosphure de lithium dans le tétrahydrofurane. Le diphénylphosphure de lithium est préparé selon la procédure décrite par E. Vejeds en 1973.¹⁶⁹ L'analyse du brut réactionnel obtenu lors de cette réaction nous a alors montré l'absence de groupement allyle, de sorte que la molécule présente dans le mélange n'était pas celle qui était attendue, mais le composé cible **1**. Afin de faciliter la purification sur colonne de chromatographie, le mélange brut obtenu à la fin de la réaction de déméthylation, contenant le cryptophane **1** et de la diphénylphosphine, a été mis en présence d'anhydride acétique et de pyridine. Cette réaction a permis de convertir toutes les fonctions hydroxyles en acétates et ainsi d'obtenir un cryptophane **23** pour lequel la purification est beaucoup plus aisée. La caractérisation du

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

composé **23** s'est révélée surprenante. En effet, lors de l'enregistrement du premier spectre RMN ^1H dans le chloroforme deutéré, le signal du méthyle du groupement acétate porté par la chaîne pontante est quasiment indétectable. En effet, celui-ci se présente sous la forme d'un signal très large autour de 2 ppm. L'utilisation d'autres solvants deutérés comme CD_2Cl_2 , le DMSO- d_6 ou encore le $(\text{CDCl}_3)_2$ donnent quant à eux des signaux différents pour ce même groupement (Figure 62).

Dans le CD_2Cl_2 , le signal est fin et à 2,08 ppm (Figure 62, en haut) alors que dans le DMSO- d_6 , le signal est large et se situe entre 0 et 0,5 ppm (Figure 62, en bas). Enfin dans le $(\text{CDCl}_3)_2$, le signal du méthyle est large et encore plus blindé autour de -0,5 ppm. L'obtention de ces différents comportements selon le solvant utilisé semble montrer que la position du groupement acétate varie d'un solvant à l'autre. Dans le CD_2Cl_2 , le signal fin et proche des signaux des autres groupements acétates semble montrer que l'acétate latéral est situé en dehors de la cavité du cryptophane et qu'il n'est pas en interaction avec les chaînes pontantes. La molécule de dichlorométhane entre aisément à l'intérieur de la cavité et agit comme un compétiteur en empêchant le groupement acétate d'y accéder. À l'inverse, les signaux blindés obtenus pour le DMSO- d_6 et le $(\text{CDCl}_3)_2$ semblent indiquer que, dans ces deux solvants, le groupement acétate pénètre au moins partiellement dans la cavité du cryptophane. Enfin le comportement intermédiaire observé pour le chloroforme deutéré semble indiquer que le groupement acétate n'est pas dans la cavité, puisque le signal n'est pas blindé, mais qu'il pourrait exister des interactions avec les chaînes pontantes, ce qui expliquerait l'élargissement du signal.

Pour le reste du spectre RMN ^1H , on retrouve tous les signaux caractéristiques des cryptophanes (Figure 62). Entre 6,5 et 7,0 ppm, on constate une superposition de certains des singulets correspondant aux protons aromatiques pour former au final un massif intégrant pour 12 H. À 5,3 ppm, le signal intégrant pour 1H est dû au proton porté par le carbone au pied de la fonction acétate sur la chaîne pontante. Le massif intégrant pour 6H autour de 4,6 ppm est caractéristique des protons axiaux portés par les ponts méthylènes de chacun des CTB. Chaque proton axial couple avec le proton équatorial porté par le même carbone, on s'attend donc à un doublet, cependant la superposition des signaux des six protons axiaux non équivalents donne le massif observé. Entre 3,9 et 4,2 ppm, on observe un massif intégrant pour 12 H qui correspond aux douze protons portés par les chaînes pontantes (le proton au pied de l'acétate étant lui à 5,3 ppm). Un nouveau massif intégrant pour 6H est observé autour de 3,5 ppm et correspond cette fois à la superposition des signaux des six protons équatoriaux portés par les ponts méthylènes des unités CTB. Le massif centré sur 2,3 ppm et intégrant pour 18H peut être attribué à la superposition des six singulets des protons portés par les groupements méthyles des acétates qui se trouvent sur les aromatiques. Enfin, à 2 ppm on retrouve le signal du méthyle de l'acétate latéral évoqué précédemment. Entre 2,0 et 2,5 ppm on peut également voir un ensemble de petits signaux indiqués par les lettres A-E sur le spectre et qui révèlent la présence

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

de la forme implosée de la molécule **23**. Ces derniers signaux apparaissent progressivement au cours du temps. Lorsque le composé **23** est fraîchement préparé, ils sont absents du spectre RMN.

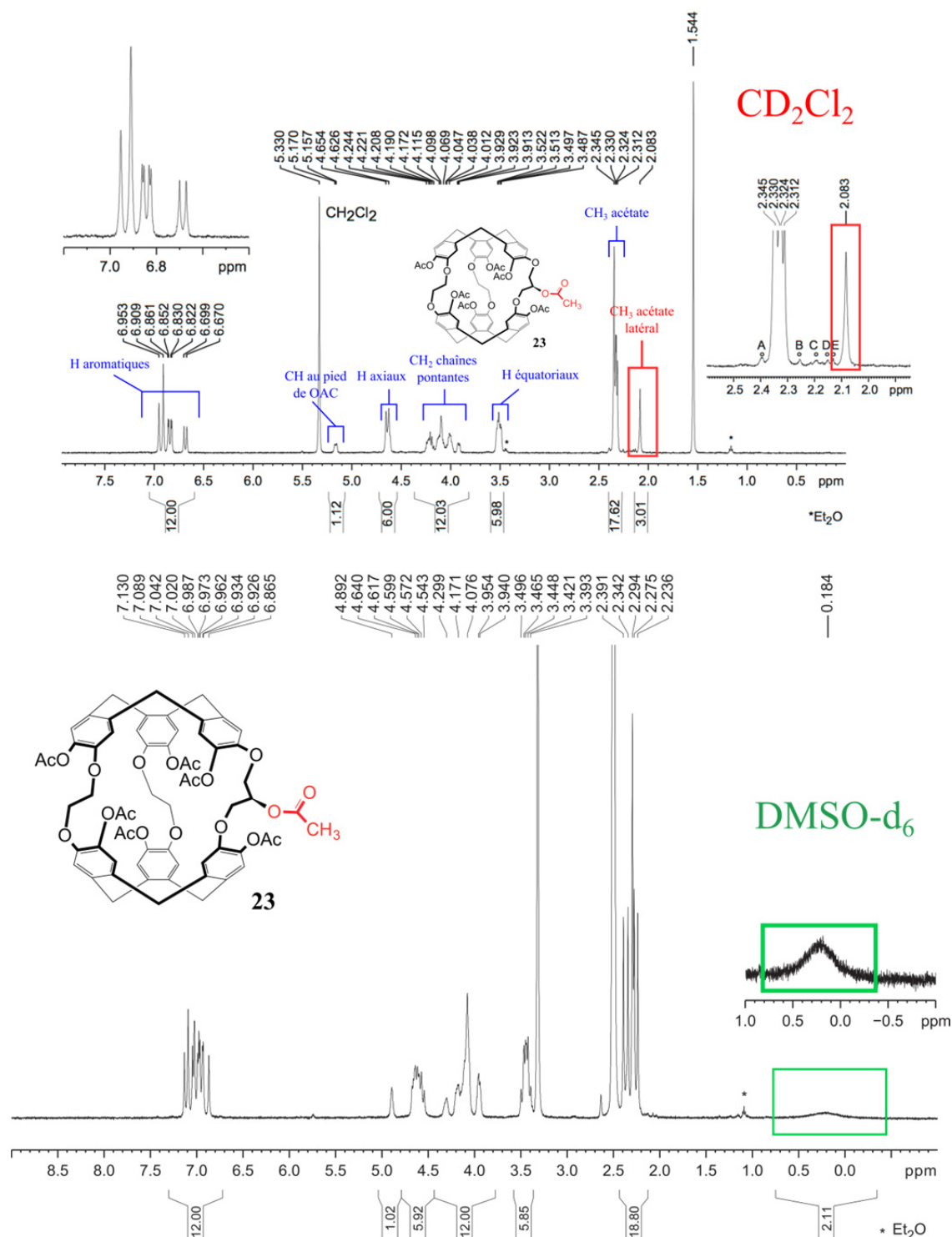


Figure 62 : Spectres RMN ^1H du composé **23** à 298 K. En haut : spectre enregistré dans le CD_2Cl_2 , le signal du groupement méthyle de l'acétate porté par la chaîne pontante est alors fin et autour de 2,08 ppm. En bas : spectre enregistré dans le DMSO-d_6 , le signal du même groupement méthyle est à présent beaucoup plus large et se trouve entre 0 et 0,5 ppm.

Les fonctions acétates ont ensuite été clivées par une hydrolyse basique pour conduire à la molécule **1** avec un rendement de 86%. La dernière étape d'hydrolyse ne produisant que des sous-produits

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

hydrosolubles pouvant être retirés lors des étapes de lavage, elle n'a pas nécessité de purification supplémentaire et a permis d'obtenir la cible désirée avec une grande pureté. Le spectre RMN ^1H du cryptophane **1** dans le DMSO deutéré montre bien la présence de six fonctions phénol sur la molécule (Figure 63, les six pics entre 7 et 8,5 ppm). Les autres signaux caractéristiques que l'on peut mentionner sont le massif des aromatiques intégrant pour 12 protons entre 6,5 et 7 ppm ou encore le signal du proton porté par le carbone au pied de la fonction alcool secondaire à 5,3 ppm. Les signaux des protons axiaux et équatoriaux des ponts méthylènes sont de nouveaux présents sous la forme de deux massifs l'un centré sur 4,2 ppm et l'autre centré sur 3,2 ppm.

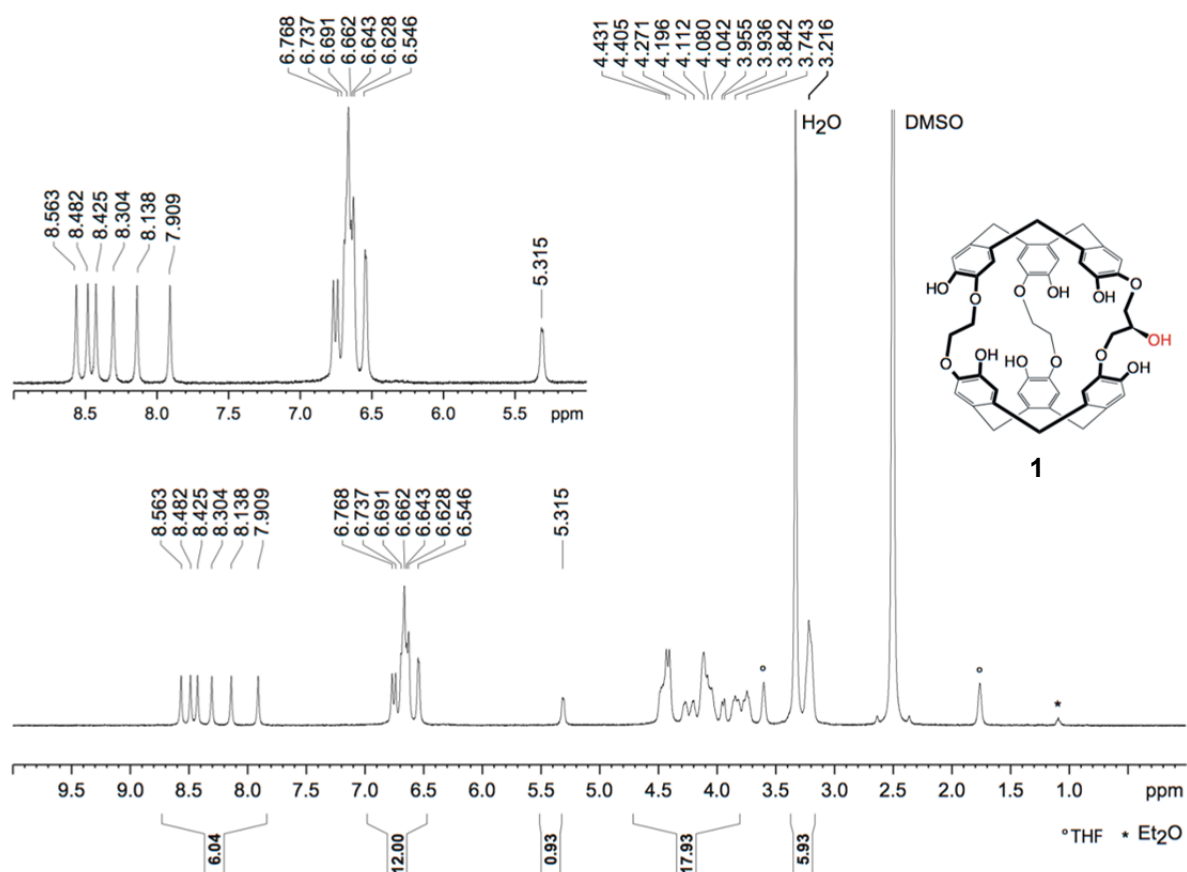


Figure 63 : Spectre RMN ^1H du composé **1** dans le DMSO deutéré.

Le spectre de la figure 63 ne présente pas de signaux de la forme implorée du cryptophane, cependant nous avons observé l'apparition de tels signaux lorsque les échantillons sont conservés sur des temps longs.

L'obtention du composé **1** a validé cette voie de synthèse, cependant celle-ci nécessite l'usage de plusieurs réactions de protections qui, bien qu'efficaces, sont chronophages. Nous avons donc tenté de varier la voie de synthèse de manière à éviter la mise en place d'une stratégie de protection. Pour cela nous avons opté pour un changement des conditions de cyclisation en utilisant des conditions plus

douces, comme le triflate de scandium dans l'acétonitrile. Cette nouvelle stratégie est présentée par la suite.

III.2. Stratégie de synthèse avec une cyclisation par le triflate de scandium

Les conditions de cyclisation par le triflate de scandium étant plus douces que celles mises en jeu lors de l'utilisation de l'acide formique, il n'est plus nécessaire d'envisager une protection de l'alcool secondaire latéral. Il n'est, par la même occasion, plus indispensable de protéger les fonctions alcool benzylique du synthon **5** avant d'introduire la troisième chaîne pontante.

Le schéma de synthèse permettant l'accès à la molécule cible **1** est présenté ci-dessous.

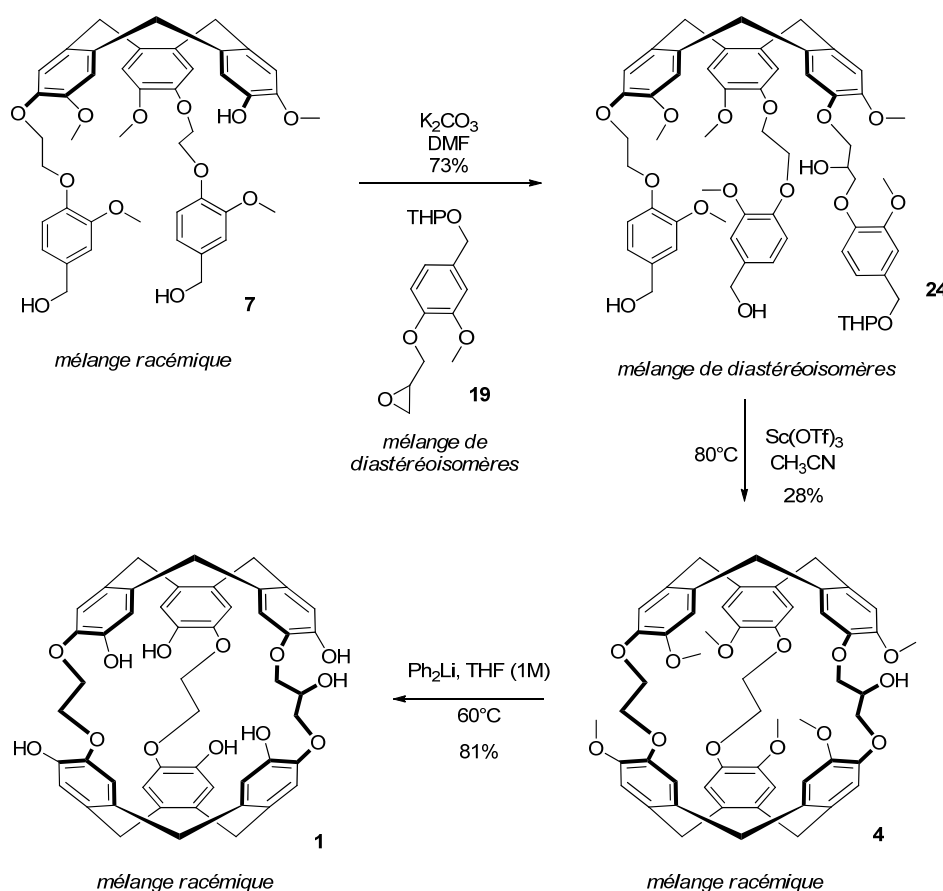


Figure 64 : Schéma synthétique d'accès à la molécule cible **1** par une stratégie de cyclisation par le triflate de scandium.

Le composé diponté **7** est engagé sans protection dans une réaction de substitution nucléophile avec le composé **19** pour mener au CTB triponté **24** avec un rendement de 73%. Pour cette réaction, nous avons modifié la base utilisée en optant pour le carbonate de potassium moins coûteux et donnant des résultats comparables. Le pKa de cette base permet de déprotoner la fonction phénol que l'on souhaite faire réagir sans toucher aux fonctions alcool benzylique. Le troisième bras est introduit avec un groupement THP masquant l'alcool benzylique afin d'abaisser la polarité de la molécule tripontée obtenue et de faciliter la purification sur colonne de silice. La cyclisation par le triflate de scandium est

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

ensuite mise en œuvre dans des conditions diluées, en réalisant un ajout lent sur 8 heures du CTB triponté en solution dans l'acétonitrile sur une solution de triflate de scandium dans l'acétonitrile. Cette étape de cyclisation permet l'obtention du cryptophane **4** avec des rendements allant de 20 à 28%. Devant les faibles rendements obtenus pour cette réaction, nous avons tenté de faire varier divers paramètres expérimentaux comme le temps d'addition (de 5 à 24 h), les équivalents en triflate de scandium (de 1,5 à 3 équivalents par rapport au CTB triponté **24**), la température de la réaction (de 40°C à 95°C), ou encore les concentrations des solutions dans le ballon ou l'ampoule de coulée. Malheureusement, aucune tendance reproductible ne s'est dégagée de ces essais. Dans une recherche de production de larges quantités de produit, cette réaction de cyclisation a été réalisée sur des échelles de plus en plus grandes. Les rendements sont conservés jusqu'à 2,5 g du CTB de départ, mais au-delà (les essais ayant été réalisés jusqu'à 9 g) des rendements nettement moins bons sont observés. Il ne semble pas, encore une fois, se dégager de tendance reproductible dans la dégradation des rendements pour de plus larges quantités de CTB. En fin de réaction, le ballon est recouvert d'une couche de polymères d'aspect vitreux qui emprisonnent une partie du produit. Les variations de rendements observés semblent ainsi dues plus à la quantité de produit qui reste pris dans les polymères qu'aux conditions expérimentales. Pour les réactions réalisées sur de très larges échelles du CTB de départ, la quantité plus importante de polymères formés est peut-être, de la même façon, responsable des mauvais résultats obtenus.

À partir du cryptophane **4**, une dernière étape de déméthylation permet enfin d'obtenir la molécule cible **1** avec un rendement de 81%. Afin de simplifier l'obtention de ce composé, une purification par chromatographie sur colonne de silice, en utilisant un mélange d'éluateurs polaires AcOEt/EtOH/H₂O dans les proportions 90/8/2, a été mise au point et permet d'éviter le passage aux acétates.

Cette seconde stratégie d'obtention du cryptophane **1** est pénalisée par un rendement modeste de cyclisation, mais bénéficie du gain de deux étapes de synthèse et permet tout de même d'obtenir plusieurs centaines de milligrammes de produit en une seule expérience. Les deux stratégies mènent à des rendements sensiblement comparables au total. En revanche, elles donnent accès à des molécules intermédiaires différentes (les cryptophanes **22** et **4**) qui peuvent présenter un intérêt pour introduire des chaînes latérales différentes par la suite.

L'obtention du cryptophane **1** a permis de démarrer les études de complexation des cations métalliques qui seront présentées et analysées dans le chapitre suivant. Cependant, en vue de l'obtention de plateformes pour les biosondes au xénon 129, il est nécessaire d'introduire des groupes assurant l'hydrosolubilisation au niveau des aromatiques et ainsi d'atteindre les cibles synthétiques **2** et **3** présentées plus haut.

IV. Obtention des plateformes pour les biosondes au xénon 129

IV.1. Synthèse de la plateforme 2 comportant les acides carboxyliques

Afin de rendre les cryptophanes hydrosolubles, la première stratégie consiste à introduire des acides carboxyliques sur les aromatiques (Figure 65).

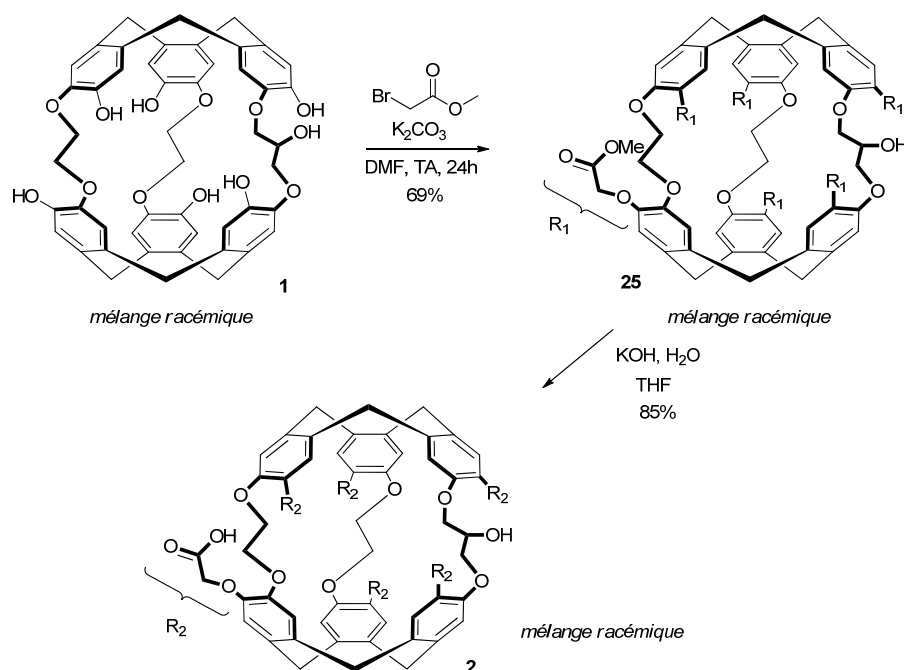


Figure 65 : Introduction des acides carboxyliques pour obtenir le cryptophane hydrosoluble 2.

Le cryptophane hydrosoluble 2 a été obtenu en deux temps. Tout d'abord, des réactions de substitution nucléophile entre le cryptophane 1 et le bromoacétate de méthyle en présence d'une base mènent à l'hexaester 25 avec un rendement de 69%. La réaction est réalisée à température ambiante pour s'assurer d'une bonne chimiosélectivité entre les phénols et la fonction alcool secondaire. Cependant, des essais préliminaires ont été menés à plus haute température (60°C et 120°C) afin d'accélérer la réaction, et l'analyse par spectrométrie de masse des bruts réactionnels obtenus a montré la formation d'un composé comportant sept fonctions ester. Une température trop élevée semble donc favoriser l'alkylation de l'alcool secondaire, même en présence d'une base faible comme le carbonate de potassium. L'absence de chauffage permet heureusement l'obtention du cryptophane 25 comme seul produit, ce qui valide le choix de l'alcool secondaire comme fonction chimique latérale pour la construction de plateformes moléculaires. Les esters sont ensuite hydrolysés par l'hydroxyde de potassium dans un mélange d'eau et de THF. Après évaporation du THF, la solution aqueuse basique est acidifiée pour faire précipiter un solide qui est lavé à l'éther pour donner la plateforme 2 recherchée. La molécule est hydrosoluble en milieu basique comme le montre le spectre RMN ^1H

obtenu dans une solution de NaOD dans D₂O (Figure 66). À faible concentration, cette molécule est également hydrosoluble à pH neutre.

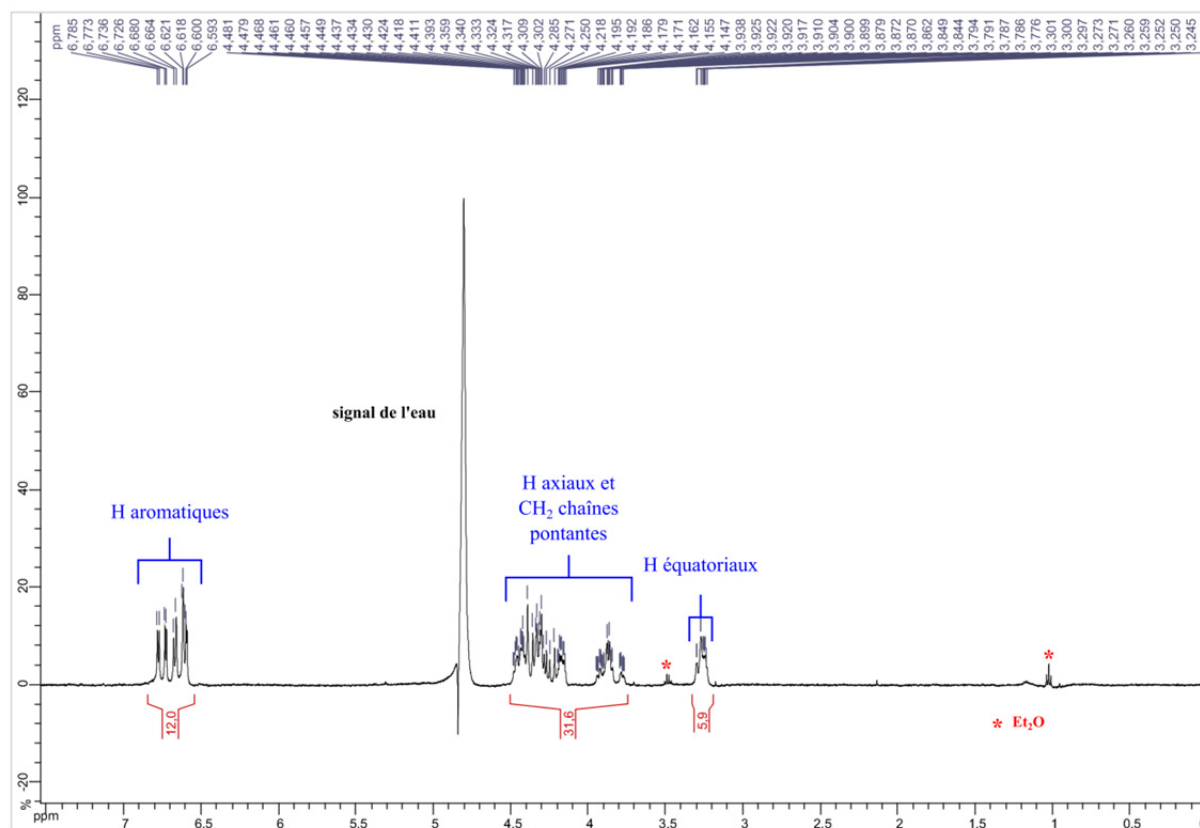


Figure 66 : Spectre RMN ¹H du cryptophane 2 dans une solution de NaOD dans D₂O.

Le cryptophane 2 constitue la première plateforme obtenue pour l'IRM au xénon. Les propriétés de complexation du xénon sont présentées dans le chapitre suivant. L'obtention du cryptophane hexa-acide 2 démontre la possibilité de fonctionnaliser les fonctions phénol en présence de la fonction alcool secondaire. Ceci permet d'envisager de nombreuses possibilités de fonctionnalisation au niveau des aromatiques, tout en conservant le point d'accroche latéral sous forme d'alcool. Dans l'optique d'apporter une source d'hydrosolubilisation indépendante du pH de la solution aqueuse, nous nous sommes tournés vers l'introduction de groupements polyéthylène glycol par une réaction d'alkylation analogue.

IV.2. Synthèse de la plateforme 3 comportant les groupements polyéthylèneglycol

Pour l'introduction des groupements PEG, il a tout d'abord fallu décider de la longueur des chaînes PEG à utiliser. En 2013, l'équipe de B. Rousseau a mis au point la synthèse d'un cryptophane portant trois fonctions PEG sur l'un des CTB.⁴¹ Les PEG utilisés étaient alors des PEG-11, donc avec des chaînes assez longues. Un résultat particulièrement intéressant, et qui n'était pas évident *a priori*, est

que la présence de ces longues chaînes sur le cryptophane ne semble pas gêner l'encapsulation du xénon. En revanche, l'utilisation de longues chaînes PEG ne permet pas un contrôle précis de la composition de l'échantillon de PEG. Il y a bien souvent plusieurs longueurs de chaînes différentes. Pour cette raison, nous avons choisi d'utiliser des PEG plus courts de type PEG-3 dont la structure est parfaitement définie. Nous avons alors fait l'hypothèse que dans notre système, la perte d'hydrosolubilisation créée par l'utilisation de chaînes plus courtes serait en partie compenser par l'introduction de six groupements PEG sur la molécule. Les groupements PEG ont été introduits par substitution nucléophile entre les phénols du cryptophane **1** et le dérivé tosylate d'un PEG-3 (**26**), en présence d'une base faible (Figure 67). Ici il est important de bien connaître la composition du PEG utilisé afin de permettre un bon contrôle du nombre de chaînes fixées sur le cryptophane. Ce contrôle a été réalisé par spectrométrie de masse et par RMN, mais n'aurait pas été envisageable pour des longueurs non contrôlées de chaînes PEG.

Contrairement à la réaction entre le cryptophane **1** et le bromoacétate de méthyle, qui demandait l'absence de chauffage afin d'éviter l'alkylation de l'alcool secondaire, la réaction avec le PEG-OTs a nécessité un chauffage à 60°C afin d'atteindre son avancement maximal.

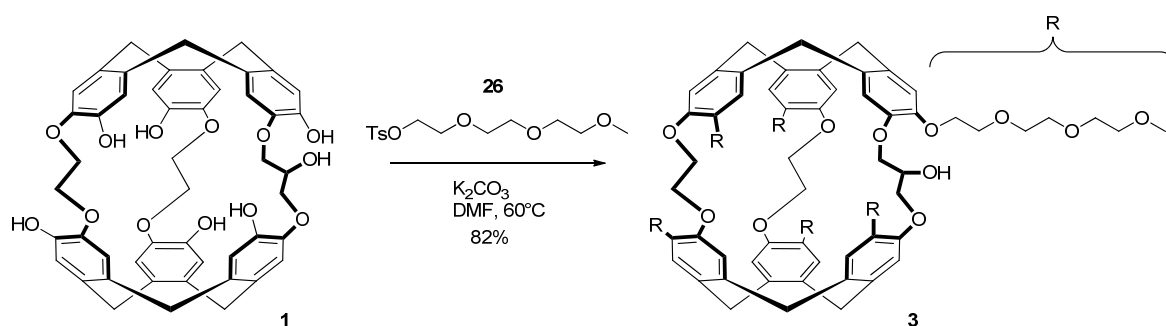


Figure 67 : Introduction de groupements PEG sur le cryptophane **1** pour mener au cryptophane hydrosoluble **3**.

Après une nuit de chauffage à 60°C, le mélange obtenu est purifié sur colonne de silice avec un éluant AcOEt/MeOH/H₂O dans les proportions 7/2/1 pour donner la plateforme **3** avec un bon rendement de 82%. Le spectre RMN ¹H du composé **3** dans le DMSO deutéré est présenté en figure 68. Il est très difficile de discerner les signaux caractéristiques des cryptophanes car ces derniers sont superposés aux signaux des groupements PEG. On peut cependant voir un massif aromatique intégrant pour 12 H ainsi que des signaux correspondant à la cage implorée. La présence de la forme implorée est sans doute causée par les conditions expérimentales utilisées. En effet, le DMF ne pénétrant pas dans la cavité du cryptophane, un chauffage prolongé dans ce solvant peut mener à une implosion d'une partie de la cage. Pour cette raison, en fin de réaction, l'évaporation du DMF doit être réalisée sans chauffage dans la mesure du possible.

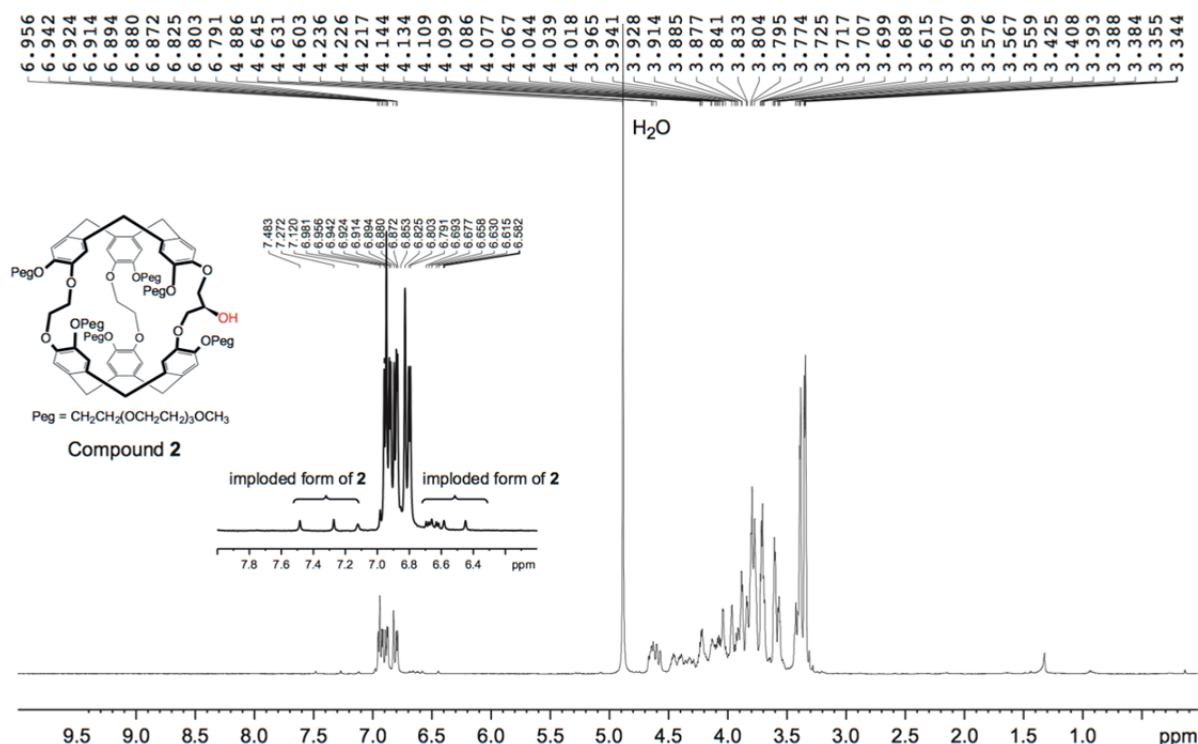


Figure 68 : Spectre RMN ^1H du cryptophane **2** dans le DMSO deutéré. Les signaux de faible intensité que l'on peut voir de part et d'autre des pics aromatiques correspondent à la forme implosée de la cage.

Le cryptophane **3** constitue une seconde plateforme pour l'imagerie du xénon ^{129}Xe . Cette molécule est hydrosoluble pour un pH neutre à faible concentration et l'étude de la complexation du xénon en solution aqueuse au sein de sa cavité est présentée dans le chapitre suivant.

Une fois les deux cryptophanes **2** et **3** obtenus, l'enjeu a été de travailler sur la chimie de l'alcool secondaire afin de montrer qu'il était possible de le fonctionnaliser. Les différents essais que nous avons réalisés, ainsi que les modifications que nous avons été amenés à réaliser sur les plateformes sont présentés par la suite.

V. Fonctionnalisation de l'alcool central

La fonction alcool secondaire offre plusieurs possibilités de fonctionnalisation. On peut, par exemple, envisager d'utiliser l'alcool directement en tant que nucléophile dans une réaction de substitution nucléophile en présence d'une base. Il est aussi possible de transformer l'alcool en électrophile en formant, par exemple, un mésylate, puis de faire réagir celui-ci avec un nucléophile. Une dernière possibilité est d'oxyder la fonction alcool pour obtenir une cétone. Ces trois possibilités ont été explorées et sont présentées par la suite.

V.1. Réactivité nucléophile de la fonction alcool

Nous avons, dans un premier temps, testé la possibilité de fonctionnaliser l'alcool secondaire. Cette étape est indispensable pour la poursuite de notre projet et elle permet de valider notre stratégie visant à utiliser le cryptophane **2** comme plateforme moléculaire pour l'IRM du xénon hyperpolarisé. Cependant, il n'est pas envisageable de travailler sur la fonction alcool en présence des acides carboxyliques. Par conséquent, les réactions ont été menées sur le cryptophane hexa-ester **25**. Dans l'hypothèse de l'introduction ultérieure d'une unité de reconnaissance sur le cryptophane **25**, il faudrait hydrolyser les fonctions ester par la suite. Cette contrainte, et les conditions basiques qu'elle implique, doivent donc être prises en compte dans la conception d'une entité de reconnaissance stable.

Les réactions envisagées pour mettre en jeu la nucléophilie de la fonction alcool sont des réactions de substitution nucléophile en conditions basiques (Figure 69).

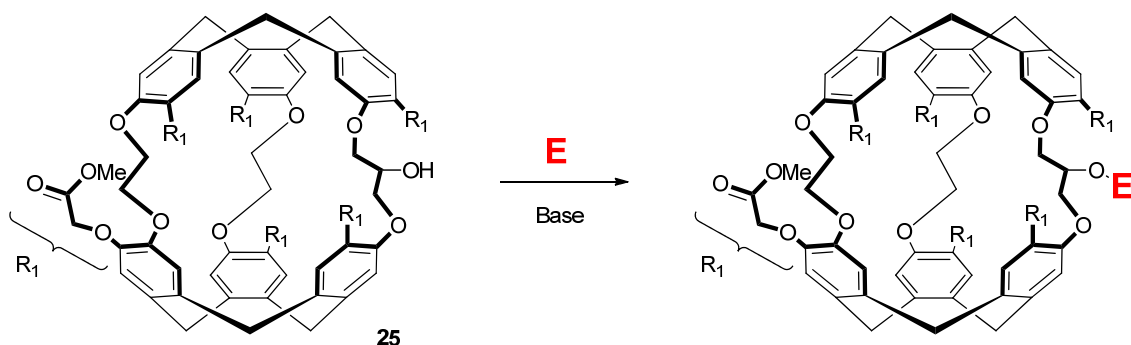


Figure 69 : Schéma des essais de réaction entre le cryptophane **25** et un électrophile **E** en conditions basiques.

Le premier électrophile que nous avons testé est le bromure de propargyle, ceci en vue de permettre le greffage d'une entité de reconnaissance par réaction de click-chemistry.¹⁷⁰ Cette stratégie de greffage d'unité de reconnaissance sur un cryptophane n'est pas nouvelle et s'est montrée efficace pour le groupe de I. Dmochowski pour introduire diverses unités de reconnaissance portant un groupement azide sur des cryptophanes présentant une ou plusieurs fonctions propargyles.^{100,171,172}

Une contrainte à l'utilisation du bromure de propargyle est que, comme tous les alcynes vrais, il présente un proton labile. Le pK_a du couple associé étant d'environ 25, il faut soit utiliser une base assez faible pour ne pas le déprotoner, soit effectuer une protection préalable à la réaction de substitution nucléophile. Nous avons envisagé la première solution dans un premier temps, en utilisant comme base le carbonate de césium (Tableau 3, entrée 1).

Lors de l'introduction des groupements ester sur le cryptophane **1**, l'usage d'une base faible à haute température semblait mener à une réaction d'alkylation de l'alcool secondaire, ce qui était encourageant pour cette nouvelle réaction. Cependant, le suivi par RMN de la réaction avec le bromure de propargyle n'a pas montré de formation de produit. De plus, au fil du temps, les spectres

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

RMN ont mis en évidence une augmentation importante de la proportion de cage implosée dans le milieu réactionnel. L'absence de réaction, semble indiquer que le carbonate de césium n'est pas une base assez forte pour permettre de former un couple nucléophile/électrophile suffisamment réactif pour mener à la substitution nucléophile envisagée. L'implosion de la cage observée au fil du temps est quant à elle due à la température élevée du milieu réactionnel qui ne contient pas de substrat capable de rentrer dans la cavité.

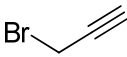
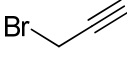

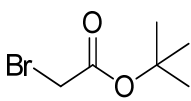
Entrée	Électrophile	Base	Température	Solvant	Résultat
1		Cs ₂ CO ₃	120°C	DMF	Réactif 22 et formation de la forme implosée
2		NaH	Température ambiante	THF	De nombreux signaux en spectrométrie de masse ne correspondant pas aux masses recherchées
3		NaH	60°C	DMF	De nombreux signaux en spectrométrie de masse ne correspondant pas aux masses recherchées
4		tBuOK	80 à 120 °C	DMF	De nombreux signaux en spectrométrie de masse ne correspondant pas aux masses recherchées Les spectres RMN laissent penser qu'il y a une partie de transestérification

Tableau 3 : Tableau récapitulant les conditions mises en œuvre pour faire réagir la fonction alcool de la molécule **25** en présence d'une base et d'un électrophile.

Le carbonate de césium n'ayant pas permis de réaction, l'emploi d'une base plus forte comme le l'hydrure de sodium (NaH) a été envisagé. Les premiers essais ont été réalisés avec un bromure de propargyle non protégé dans le THF à température ambiante (entrée 2), tandis que l'entrée 3 montre les résultats obtenus avec un bromure de propargyle protégé en chauffant à 60°C dans le DMF. Dans les deux cas, les bruts réactionnels ont été analysés par spectrométrie de masse et ont montré la

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

présence de nombreux composés de masses supérieures à celles des produits recherchés. Le NaH est une base assez forte pour déprotoner en alpha des fonctions ester (le pKa du couple associé étant attendu entre 20 et 25), il est donc possible qu'il y ait formation de carbanions en alpha des esters en présence de cette base. Ces derniers pourraient alors provoquer des réactions secondaires d'alkylation qui expliqueraient l'obtention des masses supérieures à celle du produit visé observées en HRMS. On peut penser que, le proton le plus acide du cryptophane **25** étant celui de l'alcool, l'ajout de précisément un équivalent de base devrait permettre d'éviter ces réactions secondaires. Cependant, les réactions ont été menées sur des quantités faibles de cryptophane (entre 30 et 50 mg), ce qui a demandé d'introduire des quantités très faibles de NaH (entre 0.5 et 1 mg). Le NaH étant utilisé en suspension à 60% dans l'huile, il est possible que les incertitudes de pesée sur les petites masses et l'inhomogénéité de la suspension soient responsables de problèmes d'évaluation des équivalences. Nous avons donc opté pour une base permettant une évaluation plus précise de la masse, comme le tertibutanolate de potassium (entrée 4). Cependant, les résultats ne sont, une nouvelle fois, pas ceux escomptés. L'analyse par RMN a en effet montré des signaux correspondant à des groupements tertibutyles sur la molécule isolée, ce qui suggère qu'une réaction de transestérification s'est produite.

Le bilan de ces premiers essais est qu'il ne semble pas possible d'utiliser une base forte comme NaH, qui mène à des réactions de polyalkylation, tandis qu'une base faible ne suffit pas à induire la réactivité recherchée.

Au vu de ces résultats, nous avons tenté de modifier la réactivité de l'alcool central pour le rendre électrophile, en le transformant en mésylate. Il est particulièrement intéressant de noter que la réaction de mésylation donne des rendements corrects (71%, Figure 70). Cette réaction fait pourtant intervenir la nucléophilie de l'alcool et la pyridine, qui est une base faible. Cependant, la forte électrophilie du chlorure de mésyle et la probable catalyse nucléophile effectuée par la pyridine expliquent sans doute ce résultat.

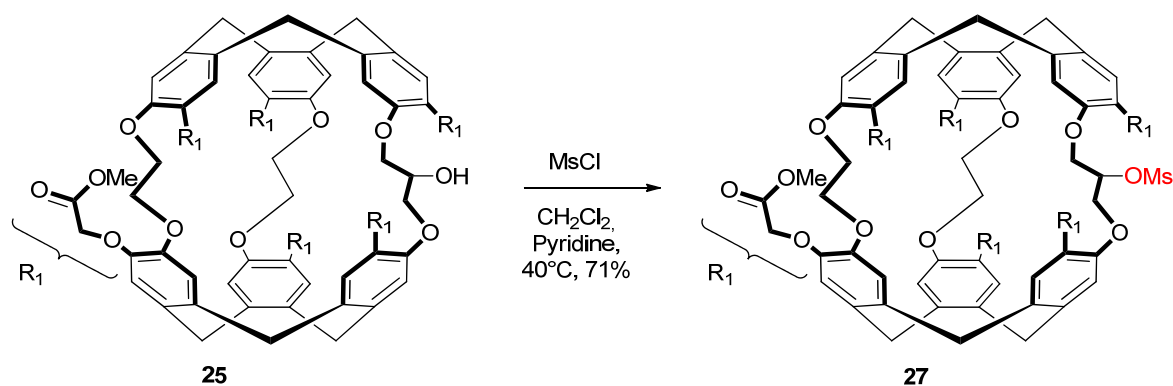


Figure 70 : Réaction de mésylation du composé hexaester **25**.

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

La méthylation est, pour l'instant, la seule réaction mettant en jeu la nucléophilie de la fonction alcool latérale qui a pu être mise en œuvre à partir de la molécule **25**. Le mésylate **27** constitue une nouvelle plateforme pouvant être utilisée comme électrophile. L'obtention de ce cryptophane nous a encouragés à tenter des réactions avec divers nucléophiles. Les résultats obtenus sont présentés plus loin.

V.2. Réactivité électrophile de la fonction mésylate

Le mésylate **27** a été engagé dans des réactions de substitution avec plusieurs nucléophiles (Figure 71). Les résultats obtenus pour ces réactions sont présentés dans le tableau 4.

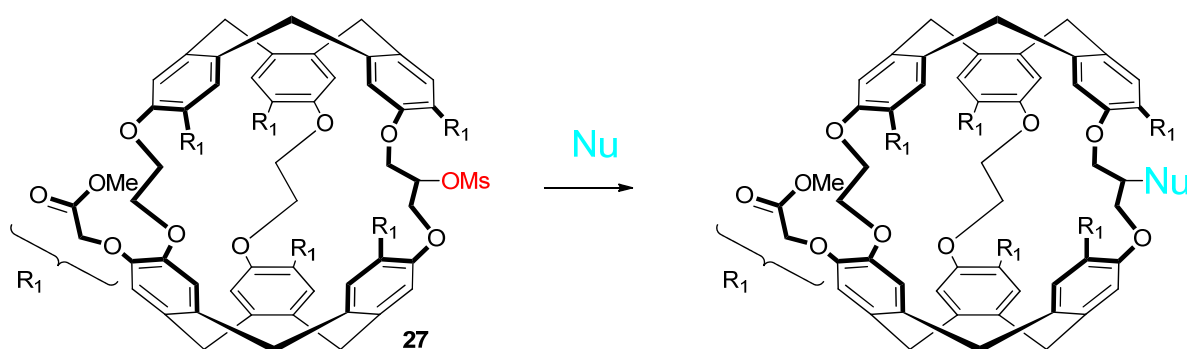


Figure 71 : Illustration des essais d'alkylation entre le cryptophane **27** et des nucléophiles **Nu**.

Entrée	Nucléophile	Conditions	Température	Solvant	Résultat
1	NaN ₃	Chauffage thermique	120°C	DMF	Réactif 27 et formation de la forme implosée
2	NaN ₃	Chauffage micro-ondes	120°C	DMF/CH ₂ Cl ₂	Réactif 27 et formation de la forme implosée Puis au cours du temps apparition de 25 issu de l'hydrolyse de 27
3	NaN ₃	Chauffage micro-ondes	120°C	DMSO	Produit 25 issu de l'hydrolyse de 27
4	Éthanethiolate	Chauffage thermique	120 °C	DMF	Produit 25 issu de l'hydrolyse de 27

Tableau 4 : Conditions et résultats des réactions entre un nucléophile et le mésylate **27**.

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

Le mésylate **27** étant encombré, il fallait choisir un nucléophile petit et ayant une bonne réactivité. Notre premier choix s'est porté sur l'azoture de sodium. Outre de répondre aux critères énoncés, celui-ci laisse envisager un couplage par *click chemistry* avec une entité de reconnaissance par la suite. Il existe, dans la littérature, de très nombreuses références de substitution d'un mésylate secondaire par l'azoture de sodium et cela dans une très grande variété de solvants.¹⁷³ Dans un premier essai, l'azoture de sodium a été introduit en présence de **27** à 120°C dans le DMF pendant une nuit (entrée 1). Cependant, le suivi de réaction par spectrométrie de masse et RMN ne montre pas de formation de produit (entrée 1). Le réactif seul est observé, et des signaux de cage implosée sont visibles.

La réaction entre un azoture et un mésylate est connue pour être favorisée par un chauffage micro-ondes,¹⁷⁴ ce type d'activation a donc été envisagé par la suite. De plus, afin d'éviter l'implosion de la cage observée pour l'entrée 1, une centaine d'équivalents de dichlorométhane ont été ajoutés au DMF. L'idée est d'introduire un substrat capable de pénétrer dans la cavité du cryptophane et ainsi d'empêcher son effondrement. Ces conditions n'ont pourtant pas permis d'obtenir le produit désiré et, comme pour l'entrée 1, seul le réactif est observé avec des traces de forme implosée. Le suivi de réaction ne montrant pas de conversion, le milieu réactionnel a été remis en l'état au four micro-ondes pour une nuit. Malheureusement, cela n'a pas conduit à la formation de produit d'alkylation mais à l'apparition du produit d'hydrolyse de **27**, c'est-à-dire un retour à l'alcool secondaire **25** ; la réaction a donc été stoppée. Le mélange DMF/dichlorométhane n'étant pas satisfaisant, un changement de solvant a été envisagé. L'entrée 3 présente ainsi un autre essai par chauffage micro-ondes mais en prenant cette fois-ci le DMSO comme solvant. Cette modification ne nous a toutefois pas apporté le produit souhaité mais une majorité de produit d'hydrolyse **25**.

Ces échecs amènent à penser que le mésylate est trop encombré pour pouvoir réagir dans une réaction de substitution nucléophile avec l'azoture de sodium. Ce type de réaction suit généralement un mécanisme de type S_N2 avec un solvant polaire aprotique comme le DMF ou le DMSO et un bon nucléophile comme l'azoture. Cependant, une substitution de type S_N2 signifie que l'attaque du nucléophile se fait en *anti* du groupement partant. Ici, cela implique soit que l'azoture entre dans la cavité pour attaquer, soit que la cage se déforme de manière à placer la chaîne pontante dans une conformation telle qu'une attaque en *anti* soit envisageable à l'extérieur de la cavité. Ces deux cas de figure ne sont pas du tout favorisés et représentent un coût énergétique qui suffit sans doute à expliquer les difficultés rencontrées lors de cette réaction. Le produit d'hydrolyse est lui aussi issu d'une substitution nucléophile au niveau du mésylate. Cependant, l'eau n'étant pas chargée, elle peut sûrement entrer plus facilement dans la cavité que l'ion azoture.

Un autre nucléophile a donc été testé dans l'espoir de changer la réactivité du système. L'éthanethiolate a été choisi car il s'agit également d'un puissant nucléophile de petite taille.

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

Malheureusement, placé dans les conditions de chauffage thermique en présence de DMF, il mène lui aussi au produit d'hydrolyse **27** (entrée 4).

L'ensemble de ces essais nous amènent à penser que le groupement mésylate est trop peu accessible sur cette position pour permettre une substitution par un nucléophile chargé, même si celui-ci est de petite taille. Nous avons donc envisagé une nouvelle stratégie dans laquelle le site réactif permettant l'introduction de l'unité de reconnaissance n'est plus porté directement sur la chaîne pontante du cryptophane mais en est légèrement éloigné. Cette nouvelle stratégie est détaillée un peu plus loin dans ce chapitre. Nous gardons cependant à l'esprit que les réactions présentées dans le tableau 4 ne sont que des essais préliminaires et que d'autres nucléophiles peuvent être testés. Il semble en particulier intéressant de tenter la réaction avec des petits nucléophiles neutres pour voir si ces derniers se comportent de manière différente et, comme l'eau, parviennent à réaliser une substitution.

Les réactivités électrophiles et nucléophiles des premières plateformes n'ayant pas été concluantes, nous avons voulu tester la possibilité d'oxyder la fonction alcool secondaire porté par la chaîne pontante. Les essais d'oxydation ainsi entrepris sont présentés dans la partie suivante.

V.3. Oxydation de la fonction alcool secondaire

L'oxydation de la fonction alcool secondaire en cétone est particulièrement attrayante car elle permettrait d'ouvrir de nouvelles possibilités pour l'insertion d'une unité de reconnaissance. On peut par exemple réaliser une réaction d'imination ou encore une réaction de type Wittig. Il existe de nombreux oxydants pour les fonctions alcool secondaire. Le Dess-Martin periodinane permet une réaction dans le dichlorométhane, qui solubilise bien la plupart des cryptophanes organosolubles, il a ainsi été utilisé pour les essais d'oxydation. Les essais d'oxydation ont porté les cryptophanes **4** et **25** (Figure 73 et Figure 73).

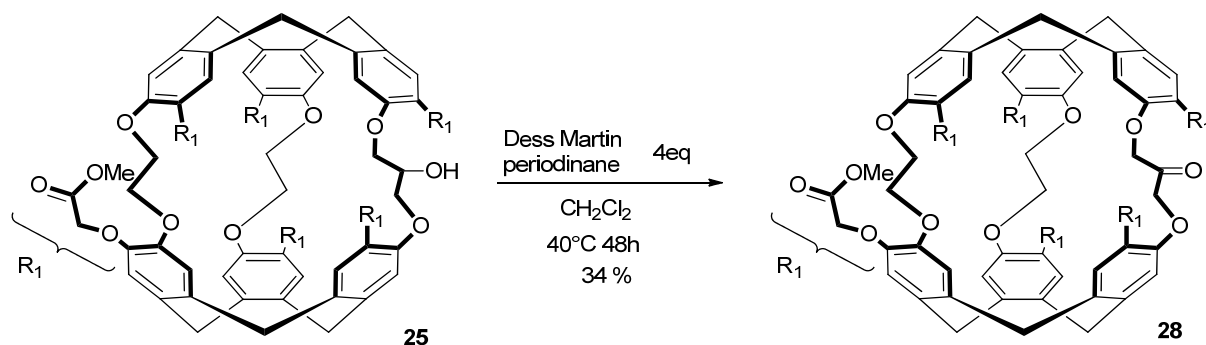


Figure 72 : Oxydation du cryptophane **25** par le Dess Martin periodinane pour former la cétone **28**

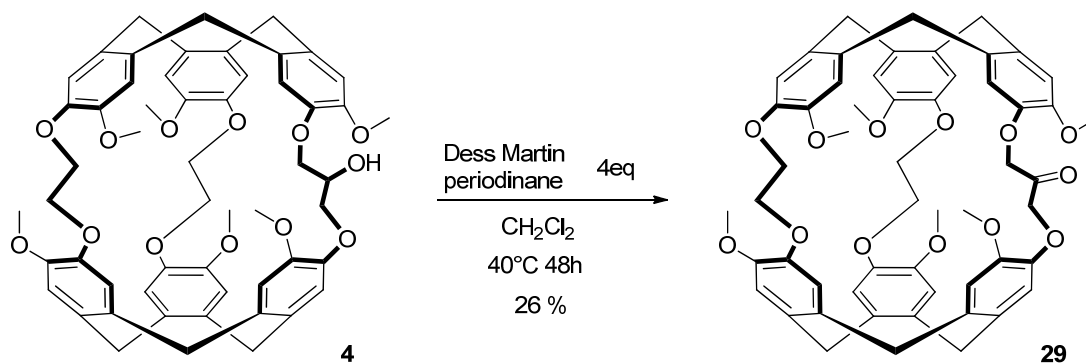


Figure 73 : Oxydation de cryptophane **4** par le Dess-Martin periodinane pour donner la cétone **29**.

Après 48 heures de réaction à reflux du dichlorométhane, chacune des réactions a été traitée et les bruts respectifs ont été purifiés par colonne de chromatographie. L'analyse par RMN et par spectrométrie de masse indique que les cétones **28** et **29** se sont bien formées, avec des rendements respectifs de 34 et 26%. Ces rendements sont modestes, mais constituent des résultats préliminaires encourageants pour la suite. Il est à présent nécessaire de reproduire ces manipulations afin d'optimiser les conditions expérimentales ou encore de tester d'autres agents oxydants.

Les essais de fonctionnalisation sur les cryptophanes hexaester **25** et **27** laissent penser qu'une fois les fonctions hydrosolubilisantes introduites, il est particulièrement difficile de faire réagir la fonction latérale, qu'il s'agisse d'un alcool ou d'un mésylate. Les résultats obtenus semblent montrer que l'encombrement de la fonction latérale diminue grandement sa réactivité. Nous nous sommes donc dirigés vers une autre stratégie afin d'obtenir de nouvelles plateformes pour lesquelles la fonction réactive serait moins encombrée. L'obtention de cette seconde génération de plateformes et leurs réactivités est présentée dans la suite de ce chapitre.

VI. Deuxième génération de plateforme

Comme vu précédemment, les essais menés pour faire réagir la fonction alcool de la molécule **25** n'ont pas abouti. Ceci est sûrement dû à la difficulté de trouver une base assez forte pour déprotoner l'alcool sans provoquer de polyalkylation ou de transestérification. Les fonctions ester semblant être la source du problème, la nouvelle stratégie envisagée a été d'alkyler la fonction alcool latérale plus en amont dans la synthèse de la plateforme, c'est-à-dire avant l'introduction des fonctions hydrosolubilisantes. La voie de synthèse utilisant la cyclisation au triflate de scandium permet l'accès au cryptophane **4** qui présente la fonction alcool secondaire comme seule site acide, et ne présente donc pas de risque de polyalkylation. La molécule **4** a ainsi été le point de départ des modifications apportées pour la préparation de nouvelles plateformes.

VI.1. Introduction d'une fonction propargyle

La première tentative d'alkylation de la fonction alcool du cryptophane **4** a été réalisée avec le bromure de propargyle. Le propargyle a été utilisé sous sa forme protégée par le triméthylsilyl afin d'éviter des réactions parasites dues à l'acidité de l'alcyne vrai. Les obstacles rencontrés pour l'utilisation du tertibutanolate de potassium lors des essais sur l'hexaester **25** n'existant plus, cette base a pu être utilisée (Figure 74).

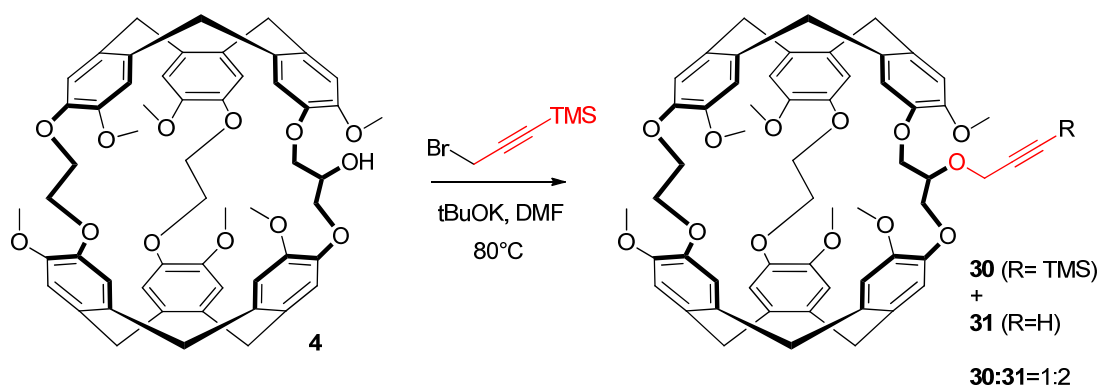


Figure 74 : Insertion d'une fonction propargyle par alkylation de l'alcool de la molécule **4**.

Le suivi de la réaction par RMN et spectrométrie de masse a montré la formation de produits d'alkylation **30** et **31** présentant la fonction propargyle respectivement protégée et libre dans un rapport 1 pour 2. Après traitement, le mélange de ces deux composés a été isolé des restes de réactifs par colonne de chromatographie et engagé tel quel dans la réaction suivante.

L'alkylation de alcool ayant réussi, nous avons entrepris d'effectuer l'étape de déméthylation des aromatiques pour former les phénols en vue d'introduire, comme précédemment, les groupements hydrosolubilisants. Pour la mise en œuvre de cette réaction, la présence ou non d'une protection sur la fonction propargyle ne semble pas déterminante. Ainsi, nous n'avons pas réalisé de purification supplémentaire pour séparer les deux composés **30** et **31**, ou encore de traitement du mélange par une solution contenant des ions fluorures pour s'assurer de la déprotection totale de la fonction propargyle. Le mélange de **30** et **31** a ainsi été traité par une solution molaire de diphénylphosphure de lithium dans le tétrahydrofurane pendant une nuit (Figure 75). Après traitement, le produit obtenu est précipité dans une solution acide à $\text{pH}=1$ puis filtré pour donner un solide. Ce dernier a été analysé par RMN et spectrométrie de masse. Malheureusement, ces deux analyses indiquent que l'étape de déméthylation a bien eu lieu mais que la molécule obtenue ne présente plus de chaîne latérale contenant une fonction propargyle.

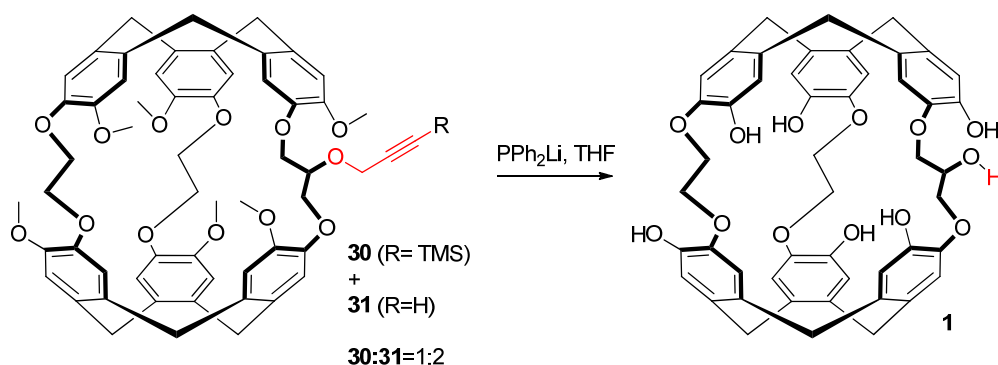


Figure 75 : Réaction de déméthylation du mélange de **30** et **31** par une solution molaire de PPh_2Li .

Le produit obtenu dans ces conditions n'est donc pas celui escompté, mais le cryptophane polyphénolique **1**. Ce résultat apparaît décevant, mais la réactivité observée est cohérente avec les résultats obtenus avec le groupement allyle lors de la réaction de déméthylation du composé **22** évoquée au paragraphe III.1. Au cours de cette réaction, la fonction allyle du cryptophane **22** était également clivée en présence de diphénylphosphure de lithium. La présence d'une insaturation dans les fonctions allyle et propargyle semble les rendre sensibles aux conditions de déméthylation. Le groupement propargyle n'est donc pas adapté dans cette nouvelle stratégie d'alkylation en amont de la déméthylation. Ces essais ont toutefois permis de valider la stratégie d'alkylation de la fonction alcool du cryptophane **4**.

La problématique à ce point était de trouver un nouvel électrophile capable d'alkyler le cryptophane **4**, stable lors de la réaction de déméthylation, et qui contienne une fonction réactive pouvant servir de point d'accroche pour la partie reconnaissance de la biosonde. Par ailleurs, après les essais réalisés sur le mésylate **27**, l'hypothèse que nous avons émise était que celui-ci manquait de réactivité de par son encombrement. Nous avons donc cherché un électrophile contenant un alcool primaire qui permette d'obtenir une nouvelle fonction mésylate plus réactive.

VI.2. Introduction d'une nouvelle fonction alcool plus éloignée du cryptophane

Afin d'éviter les problèmes rencontrés avec la chaîne propargyle, l'électrophile utilisé pour l'introduction de la nouvelle fonction alcool ne doit pas présenter d'insaturation. Le choix de l'électrophile s'est donc porté sur le chloroéthanol. Cependant, celui-ci a dû être utilisé sous forme protégée pour masquer l'acidité du proton alcoolique lors de la réaction d'alkylation en présence de base. Nous nous sommes donc tournés vers le chloroéthanol protégé sous forme de THP (Figure 76).

VI.2.a. Réaction d'alkylation

La réaction d'alkylation entre l'électrophile choisi et le cryptophane **4** a tout d'abord été menée en prenant comme base le tertibutanolate de potassium, puisque celui-ci avait bien fonctionné pour

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

l'introduction du groupement propargyle. Ces conditions ont permis d'isoler le produit d'alkylation **32** après purification par chromatographie. Cependant, cette base ne permet pas d'atteindre une conversion totale et la moitié des quantités initiales en réactif **4** a été récupérée après chromatographie. Le tertibutanolate de potassium a donc été remplacé par l'hydrure de sodium, ce qui a permis d'atteindre une conversion totale du réactif et d'isoler le produit **32** avec un rendement de 75%.

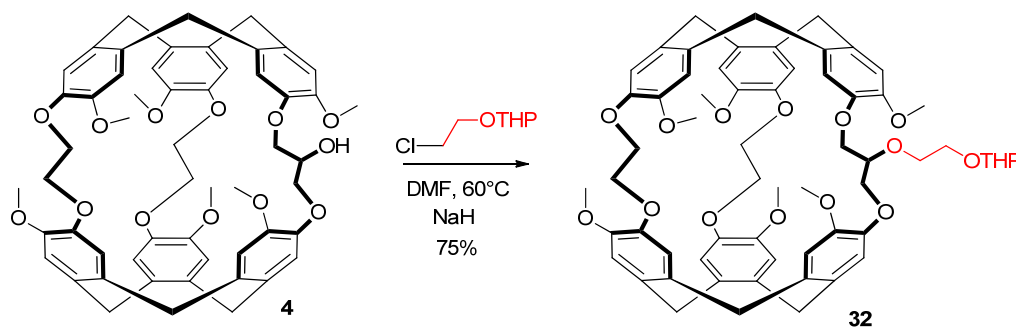


Figure 76 : Réaction d'alkylation du cryptophane **4** par le chloroéthanol protégé en présence de NaH.

L'obtention du cryptophane **32** vient confirmer la possibilité d'alkyler la fonction alcool du cryptophane **4**. Le nouveau cryptophane synthétisé a par la suite été engagé dans la séquence réactionnelle visant à l'obtention d'une nouvelle plateforme.

VI.2.b. Réaction de déméthylation

Comme précédemment, en vue de l'introduction des groupes hydrosolubilisants, la molécule **32** a été engagée dans une réaction de déprotection des six fonctions phénol (Figure 77).

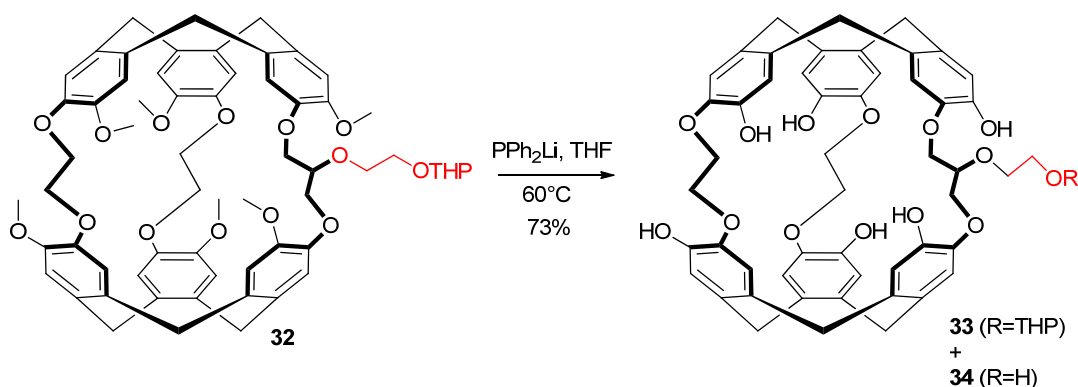


Figure 77 : Réaction de déméthylation du cryptophane **32** menant à un mélange des cryptophane **33** et **34** présentant une fonction alcool protégée ou non.

Après une nuit, le milieu réactionnel est traité et le produit est récupéré dans la phase aqueuse basique. L'acidification de cette phase aqueuse par une solution d'acide chlorhydrique permet ensuite de faire précipiter le produit. Une fois le solide formé, il est immédiatement filtré puis lavé à l'eau et à l'éther pour mener à une fine poudre blanche. La purification de cette poudre par colonne de chromatographie a permis d'isoler deux cryptophanes hexaphénoliques **33** et **34** présentant respectivement la fonction

alcool de la chaîne latérale, protégée sous forme de THP, ou libre. Par ailleurs, ces deux produits ont été obtenus dans des proportions variables selon les essais menés.

L'obtention de ces deux cryptophanes montre que la chaîne alkyle est résistante aux conditions de la réaction de déméthylation. Toutefois, une partie de la protection de l'alcool sous forme de THP est perdue dans le mélange final. Cette déprotection partielle de l'alcool se produit sûrement durant la précipitation en conditions acides. L'acidification du milieu est réalisée sans contrôle précis du nombre d'équivalents d'acide ni du temps d'agitation ou de filtration du solide. Il paraît alors normal que les proportions des produits protégés et non protégés ne soient pas reproductibles. Une meilleure maîtrise des conditions d'acidification permettrait peut-être d'éviter la déprotection de la fonction alcool. Une autre possibilité serait de protéger la fonction alcool par un autre groupement protecteur plus résistant en milieu acide comme le TBDPS. Cependant on peut aussi s'interroger sur la nécessité de conserver une protection de la fonction alcool protégée pour la suite de la stratégie d'introduction des groupements hydrosolubilisants. Pour répondre à cette question, nous avons engagé le cryptophane **34**, présentant la fonction alcool libre, dans les réactions d'introduction des groupements hydrosolubilisants. Comme nous le verrons par la suite, ces résultats se sont révélés concluants, ce qui nous a menés à modifier le protocole décrit au paragraphe précédent afin de s'assurer d'une déprotection totale de l'alcool et ainsi de la présence seule de **34** en fin de traitements. Pour cela, après précipitation par ajout d'acide chlorhydrique, le mélange obtenu est mis à agiter 2 heures avant d'être filtré et lavé. Une analyse par CCM montre la disparition complète de **33** et une purification par chromatographie mène à **34** avec un rendement de 73%.

Le cryptophane **34** synthétisé présente une fonction alcool primaire et six fonctions phénol. L'enjeu a par la suite été de prouver qu'il était toujours possible de distinguer entre les réactivités de ces deux types de fonctions pour introduire les groupements assurant l'hydrosolubilisation des plateformes.

VI.2.c. Introduction des groupements hydrosolubilisants

Comme précédemment, deux stratégies ont été envisagées pour l'hydrosolubilisation de la molécule **33**, soit des fonctions acides carboxyliques, soit des fonctions PEG. Les acides carboxyliques étant, dans cette stratégie, issus de l'hydrolyse de fonctions ester, il faut tout d'abord introduire les fonctions ester sur le cryptophane **34**.

i. Introduction des esters

Les esters ont été introduits par réaction avec le bromoacétate de méthyle en présence de carbonate de potassium dans le DMF (Figure 78).

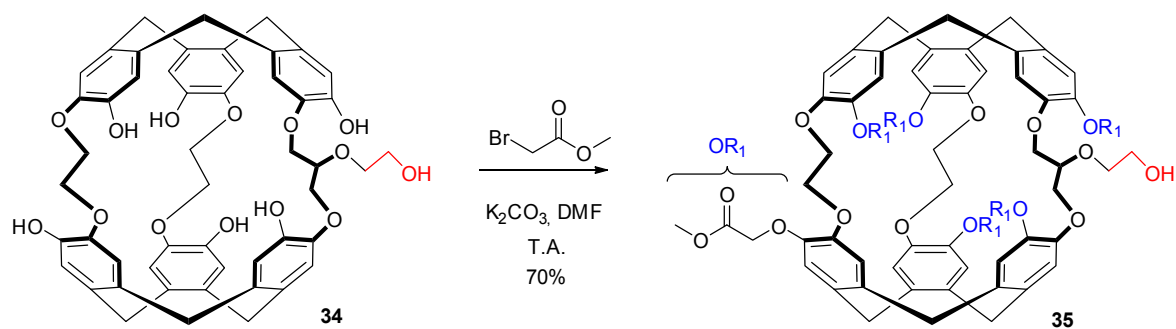


Figure 78 : Alkylation des phénols du composé **34** par le bromoacétate de méthyle pour mener au cryptophane hexaester **35**.

La réaction a tout d'abord été menée sur 24 heures à température ambiante en réalisant un suivi de réaction par CCM et spectrométrie de masse. Après traitement et purification par chromatographie, le composé hexaester **35** a pu être isolé. La figure 79 montre le spectre RMN ^1H du composé dans le chloroforme.

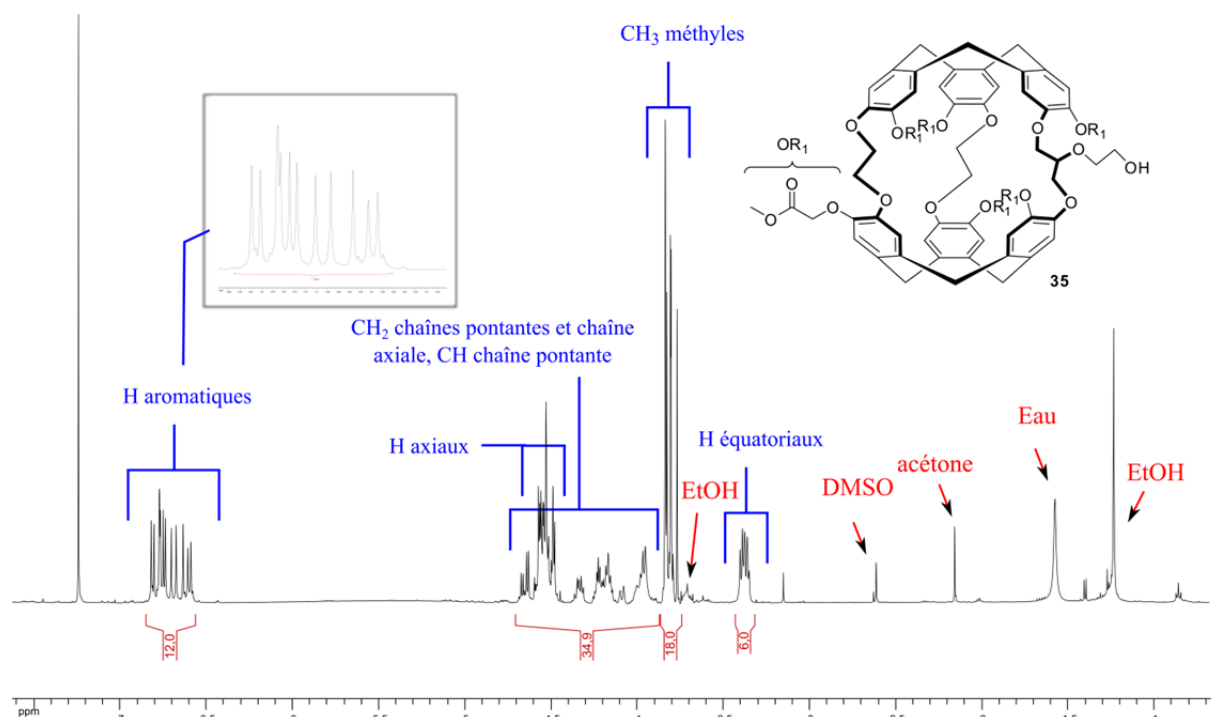


Figure 79 : Spectre RMN ^1H du cryptophane **35** enregistré à 500 MHz.

Le spectre montre la présence des 12 signaux des protons aromatiques, et ceux des CH_3 des groupements méthyles qui confirment l'introduction des groupements ester. Les H équatoriaux sont également aisément reconnaissables. En revanche les signaux des protons axiaux se superposent à ceux des CH_2 des chaînes pontantes, des CH_2 de la chaîne latérale et des CH_2 en alpha des esters, ce qui donne des massifs complexes.

Les essais de chauffage réalisés, par la suite, pour accélérer la réaction, ont montré l'apparition de signaux de spectrométrie de masse correspondant à la présence d'une septième fonction ester sur la

molécule, ce qui indique probablement une alkylation de l'alcool primaire. Ainsi, comme précédemment, la réaction doit être réalisée à température ambiante pour assurer une bonne sélectivité entre les phénols et l'alcool primaire.

La réaction d'hydrolyse des esters n'a pas été menée ici, puisque, dans une stratégie d'obtention de biosonde, celle-ci doit intervenir en dernière étape. Cependant, la preuve de concept a été apportée pour le cryptophane **2**, et les modifications structurales apportées pour cette seconde génération de plateforme ne devraient pas modifier la réactivité des esters vis-à-vis de l'hydrolyse.

ii. Introduction des PEG

Toujours dans un souci de s'affranchir d'une dépendance au pH pour l'hydrosolubilisation, des groupements PEG ont également été introduits sur la molécule **34**. Cependant, pour cette réaction, la température ambiante ne donne pas de résultats satisfaisants, et il faut chauffer le mélange à 60°C sur 24 heures pour obtenir le composé comportant six fonctions PEG (**36**) de manière très majoritaire (Figure 80).

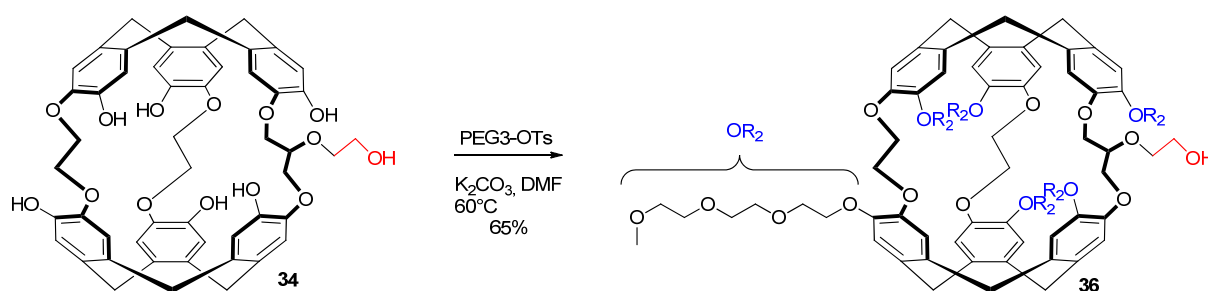


Figure 80 : Alkylation des phénols du cryptophane **34** par un tosylate de PEG 3 pour obtenir le composé hexa PEG **36**.

La réaction a été suivie par spectrométrie de masse pour contrôler la disparition des composés comportant moins de six groupements PEG et éviter la formation de la molécule en comportant sept, bien que celle-ci n'ait pas été observée. Une fois le suivi satisfaisant, le mélange réactionnel est évaporé sans traitement préalable, puis purifié par colonne de chromatographie, pour isoler le composé recherché **36** avec un rendement de 65%.

Les deux derniers cryptophanes **35** et **36** constituent deux nouvelles plateformes pouvant servir à l'obtention de nouvelles biosondes pour l'IRM au xénon 129. La présence d'un alcool primaire comme fonction réactive pour l'introduction d'une entité de reconnaissance permet d'envisager plusieurs réactions de fonctionnalisation.

VI.3. Obtention d'une plateforme présentant une fonction électrophile

Comme dit précédemment pour la molécule hexaester **25**, il paraît difficile d'utiliser la nucléophilie de la fonction alcool du cryptophane hexaester **35** pour accrocher une biosonde. Cette fonction alcool a

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

donc été transformée en mésylate par une procédure analogue à celle utilisée pour former le cryptophane **37** (Figure 81).

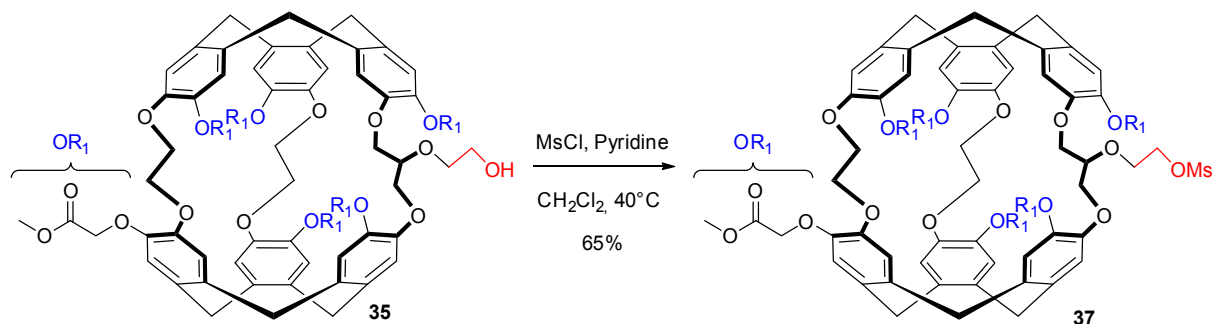


Figure 81 : Réaction de mésylation du cryptophane hexaester **35**.

Le nouveau cryptophane mésylate **37** est obtenu avec un rendement de 65% ; la XX présente le spectre RMN ^1H du composé isolé.

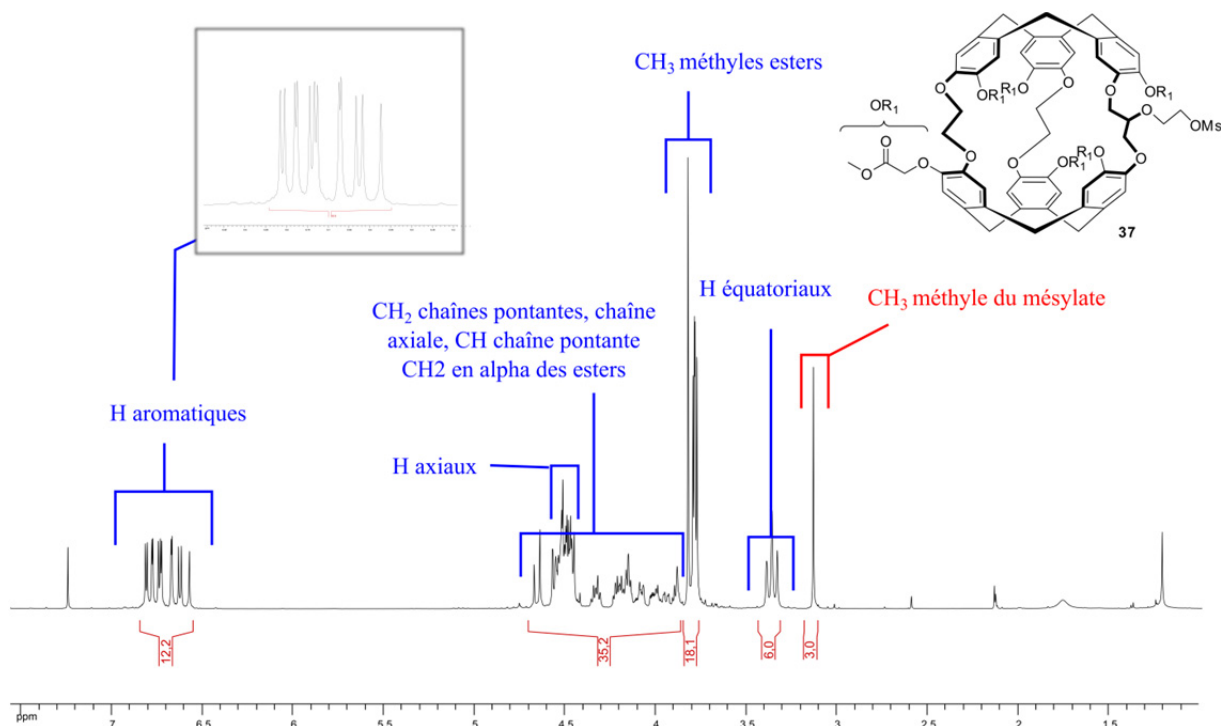


Figure 82 : Spectre RMN ^1H du composé **37** enregistré à 500 MHz.

Le spectre RMN est grandement similaire à celui du réactif **35** présenté en figure 79. On retrouve en particulier les 12 signaux aromatiques et la superposition des protons des chaînes pontantes, de la chaîne latérale, des CH_2 en alpha des esters et des protons axiaux. On retrouve également les signaux des méthyles des groupements esters 3,75 et 3,85 ppm, et enfin les signaux des H équatoriaux qui sont bien isolés entre 3,3 et 3,45 ppm. La présence du groupement mésylate est confirmée par l'apparition d'un singulet intégrant pour 3 H à 3,15 ppm.

Le mésylate **37** constitue une nouvelle plateforme présentant un site électrophile. Par manque de temps, nous n'avons pas pu tester la réactivité de cette molécule au cours de ces travaux, mais il semble raisonnable de penser qu'un mésylate primaire réagit aisément avec un nucléophile. Une large gamme de nucléophiles est susceptible de réagir avec un mésylate primaire, ce qui laisse de nombreuses possibilités pour introduire la partie de reconnaissance sur le cryptophane.

Dans la suite de ce chapitre, nous allons présenter les essais qui ont été menés pour synthétiser une partie de reconnaissance basée sur un motif NTA en vue de l'obtention de biosondes pour la détection des cations métalliques comme le zinc.

VII. Synthèse d'un bras de reconnaissance comportant l'unité NTA

VII.1. Présentation des biosondes existantes

En 2012, l'équipe de Bernard Rousseau au CEA de Saclay rapporte la mise au point d'une biosonde au xénon basée sur un cryptophane [222] auquel est reliée une entité NTA (acide nitriloacétique) pour détecter la présence du cation métallique Zn^{2+} en solution.¹⁰² Le zinc est très présent dans le corps humain et intervient dans de nombreux processus biologiques. Il est d'autant plus important de disposer d'un outil permettant sa détection que des dérégulations en zinc semblent être impliquées dans un ensemble de maladies comme le diabète, certains cancers et la maladie d'Alzheimer.¹⁷⁵⁻¹⁷⁷ La biosonde synthétisée au CEA permet une détection du cation zinc pour des concentrations faibles de l'ordre de 100 nM, ce qui constitue un gain de deux ordres de grandeur par rapport aux techniques d'IRM utilisant des agents de contraste à base de gadolinium.¹⁷⁸⁻¹⁸¹ La détection du zinc est réalisée en suivant le signal RMN du xénon encapsulé dans le cryptophane (Figure 83).

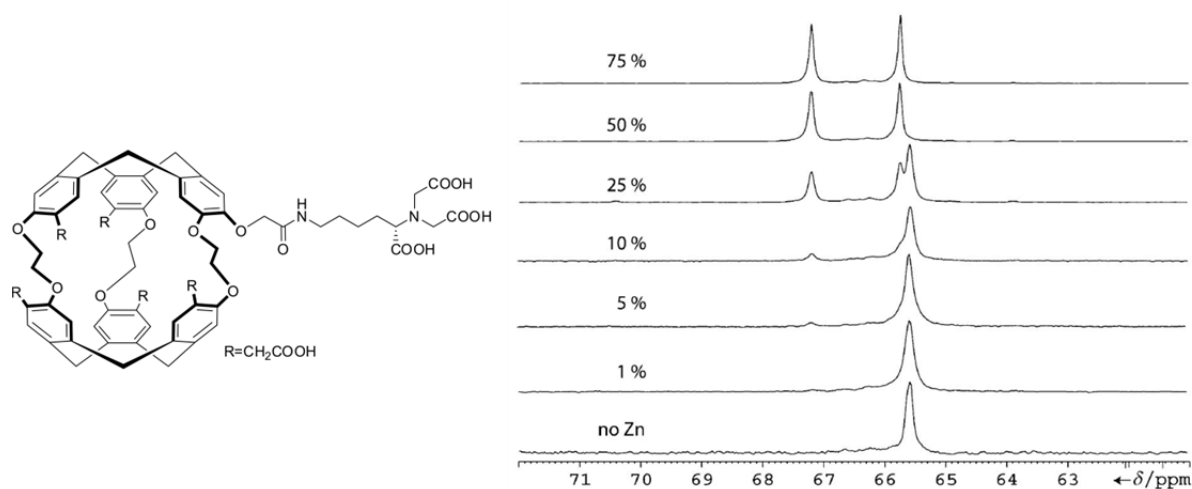


Figure 83 : À gauche : structure de la biosonde comportant la tête NTA. À droite : spectres RMN du ^{129}Xe enregistrés en un scan pour des ajouts successifs de cation Zn^{2+} à une solution de biosonde à la concentration de 260 μM . Seule la partie présentant le signal du xénon encapsulé dans le cryptophane est montrée sur ces spectres RMN.¹⁰²

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

En l'absence de zinc, un seul pic est visible dans la région du xénon encapsulé, malgré la présence de deux diastéréoisomères pour la biosonde. En revanche, lors de l'ajout de zinc, deux nouveaux signaux d'égale intensité apparaissent. Cela suggère que la complexation du zinc au niveau de la partie NTA rigidifie suffisamment le système pour que le xénon ressente deux environnements chimiques différents dans chacun des diastéréoisomères. L'attribution des deux signaux RMN du ^{129}Xe a pu être effectuée en réalisant la synthèse du cryptophane hexaacide sous sa forme énantiopure. L'observation des spectres RMN de la figure 83 montre qu'il n'y a plus d'évolution du système pour des ajouts de zinc supérieurs à 50% de la quantité de biosonde. Ceci suggère la formation d'un complexe 2 : 1 (biosonde : zinc). Cette hypothèse est confirmée par la diminution du coefficient de diffusion de la biosonde lorsque 50% de Zn^{2+} sont ajoutés au milieu. Des essais de détection du zinc ont été réalisés en présence des cations Ca^{2+} et Mg^{2+} , eux aussi fortement présents dans le corps humain. Ces essais ont montré que ces deux derniers cations n'avaient pas d'influence sur la détection du zinc, ce qui laisse envisager une possible utilisation en milieu biologique.

Cette même biosonde a été étudiée plus en détail dans les années qui ont suivi et s'est montrée capable de complexer simultanément (expérience dites de multiplexing) d'autres cations métalliques comme Pb^{2+} ou Cd^{2+} , cations qui présentent également des enjeux de détection importants.¹⁰³ De plus, les pics correspondant à la présence des trois types de cations (Zn^{2+} , Pb^{2+} et Cd^{2+}) sont suffisamment séparés pour permettre une détection simultanée de ces trois entités dans un même échantillon (Figure 84). Des expériences d'HyperCEST ont également été menées pour augmenter la sensibilité de la détection. Ces essais réalisés sur le cation Pb^{2+} ont montré qu'il était possible de détecter ce dernier jusqu'à des concentrations de 9 nM en seulement quelques secondes.

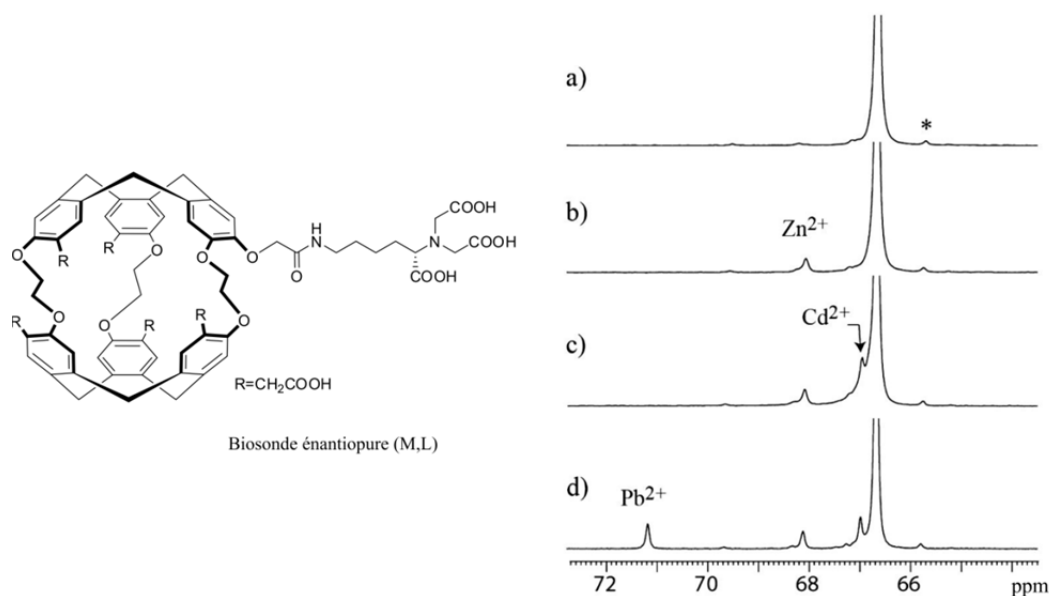


Figure 84 : À gauche : structure de la biosonde utilisée sous forme énantiopure (M, L). À droite : les différents spectres RMN du ^{129}Xe obtenus sans cation métallique (a) puis par ajouts successifs de 5% de Zn^{2+} (b), 5% de Cd^{2+} (c) et 5% de Pb^{2+} (d) à un échantillon de biosonde à la concentration de 970 μM .

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

Ces résultats montrent que cette biosonde est à la fois sélective et très sensible. Cependant, en vue d'applications *in vivo* il est nécessaire de l'obtenir en plus grande quantité, ce qui demeure problématique. En effet, l'étape de fixation de l'entité de reconnaissance sur un seul des acides carboxyliques donne lieu à un mélange statistique dont la séparation par HPLC s'avère difficile. Par ailleurs, l'hydrosolubilisation de cette biosonde est assurée par la présence des groupes carboxyliques sur les aromatiques, mais l'implication possible de ces derniers dans les processus de complexation des cations métalliques ne peut pas être complètement exclue. Il serait alors intéressant d'utiliser d'autres groupements hydrosolubilisants comme des groupements PEG pour s'affranchir de la présence d'autres sites potentiels de complexation. Enfin, la tête NTA est ici reliée au cryptophane par une chaîne relativement longue (9 atomes séparent le premier groupe acide carboxylique du cycle aromatique). Cette longueur permet de distinguer entre différents cations, mais il serait intéressant de voir si une chaîne plus courte permettrait de bénéficier d'un effet plus important sur l'environnement chimique du xénon. Nous avons donc tenté d'obtenir une entité NTA qui puisse être reliée par un bras plus court sur l'une des plateformes présentant des groupements PEG. Les stratégies envisagées et les résultats obtenus sont présentés par la suite.

VII.2. Conception d'un bras NTA plus court

Le bras NTA préparé au CEA de Saclay est basé sur l'utilisation d'un dérivé de la lysine modifié par une suite de réactions pour créer le site de complexation recherché (Figure 85).

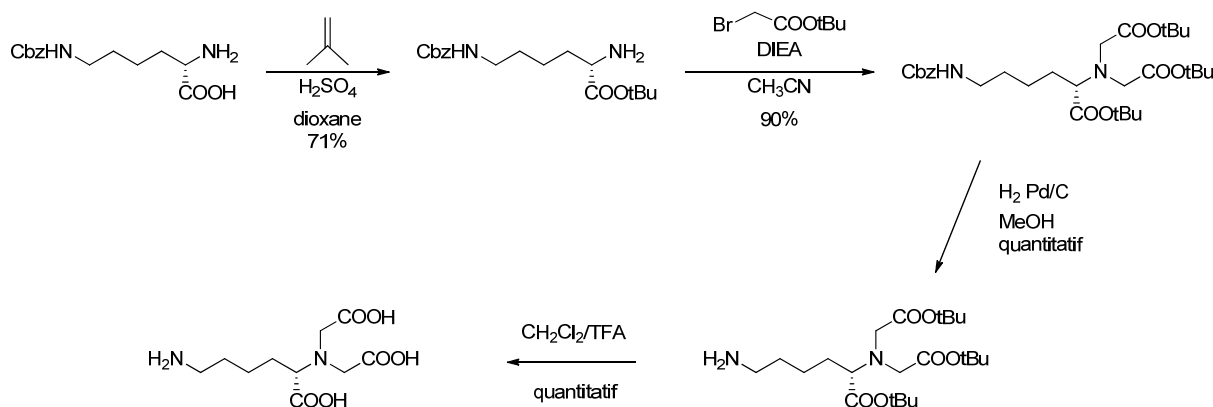


Figure 85 : Synthèse de l'entité NTA utilisée pour la biosonde de l'équipe de B. Rousseau.¹⁰²

Dans l'objectif d'obtenir un bras plus court, nous avons cherché des acides aminés plus courts comme point de départ de la synthèse. De plus, en vue de fixer cette entité de reconnaissance au niveau de l'une des plateformes PEG (c'est-à-dire les cryptophanes **3** ou **36**), dont le site réactif est une fonction alcool primaire ou secondaire, il faut créer un point d'accroche électrophile comme un groupe mésylate. Il faut, de plus, que les groupements acides carboxyliques soient protégés pour éviter toute réaction de substitution nucléophile compétitive. À ce stade, deux possibilités sont envisageables.

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

Elles présentent toutes les deux les acides carboxyliques protégés sous la forme d'ester, cependant l'un est un ester méthylique et l'autre un ester tertbutylique.

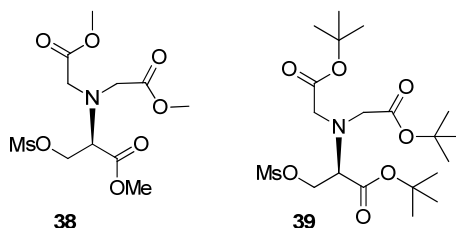


Figure 86 : Cibles potentielles pour la synthèse d'une nouvelle unité NTA plus courte.

Nous avons tout d'abord entrepris la synthèse du mésylate **38**. Une analyse rétrosynthétique (Figure 86) permet de dire que le mésylate **38** peut être issu de l'alcool primaire **40** lui-même obtenu par alkylation de l'amine primaire de l'ester méthylique de la D-sérine **41**. Cet ester est commercial mais peut également être obtenu simplement à partir de la D-sérine **42** par une procédure connue.¹⁸²

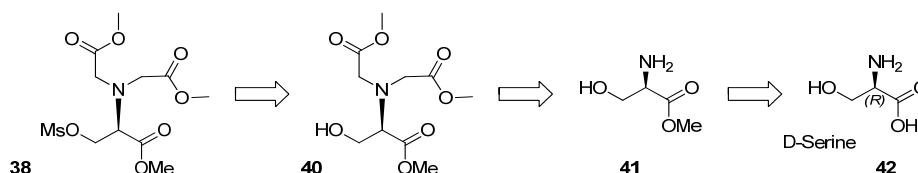


Figure 87 : Rétrosynthèse envisagée pour la préparation d'un bras NTA plus court. Le mésylate **38** peut être obtenu à partir d'un alcool **40** où la fonction amine est déjà alkylée. Les deux groupes alkyles peuvent être introduits sur une amine primaire **41** qui est l'ester méthylique de la D-sérine. Cet ester peut être obtenu par estérification de la D-sérine **42**.

En partant de la D-sérine, une première réaction d'estérification par le méthanol en présence de chlorure d'acétyle permet d'obtenir l'ester méthylique **41** sous forme d'un chlorhydrate. Il faut ensuite alkyler l'amine primaire en présence de l'alcool primaire. L'amine étant plus nucléophile que l'alcool, on s'attend à une bonne sélectivité avec une base faible comme la diisopropyléthylamine. Cette base a été choisie car elle est utilisée dans une réaction semblable pour introduire les esters tertbutyliques sur l'ester tertbutylique de la D-sérine.¹⁸³

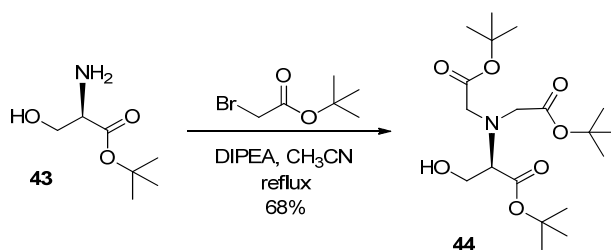


Figure 88 : Alkylation de l'ester tertbutylique de la D-sérine **43** décrit dans la littérature en présence de DIPEA et de bromoacétate de tertbutyle dans l'acétonitrile.¹⁸³

Lors de cette dernière réaction, l'agent alkylant est le bromoacétate de tertbutyle, nous avons donc opté pour l'analogue méthylique pour tenter la réaction d'alkylation menant au triester **40**. La réaction a été tentée en plaçant le chlorhydrate de **41** en présence d'un excès de base (6 équivalents) et d'un

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

excès de bromoacétate de méthyle (4 équivalents) dans l'acétonitrile. Le mélange réactionnel a été chauffé au reflux pendant 50 heures. Cependant, après traitements et colonne de silice, le produit isolé ne présentait pas les bons signaux en RMN. Des spectres 2D ont été réalisés pour attribuer les signaux observés (Figure 89).

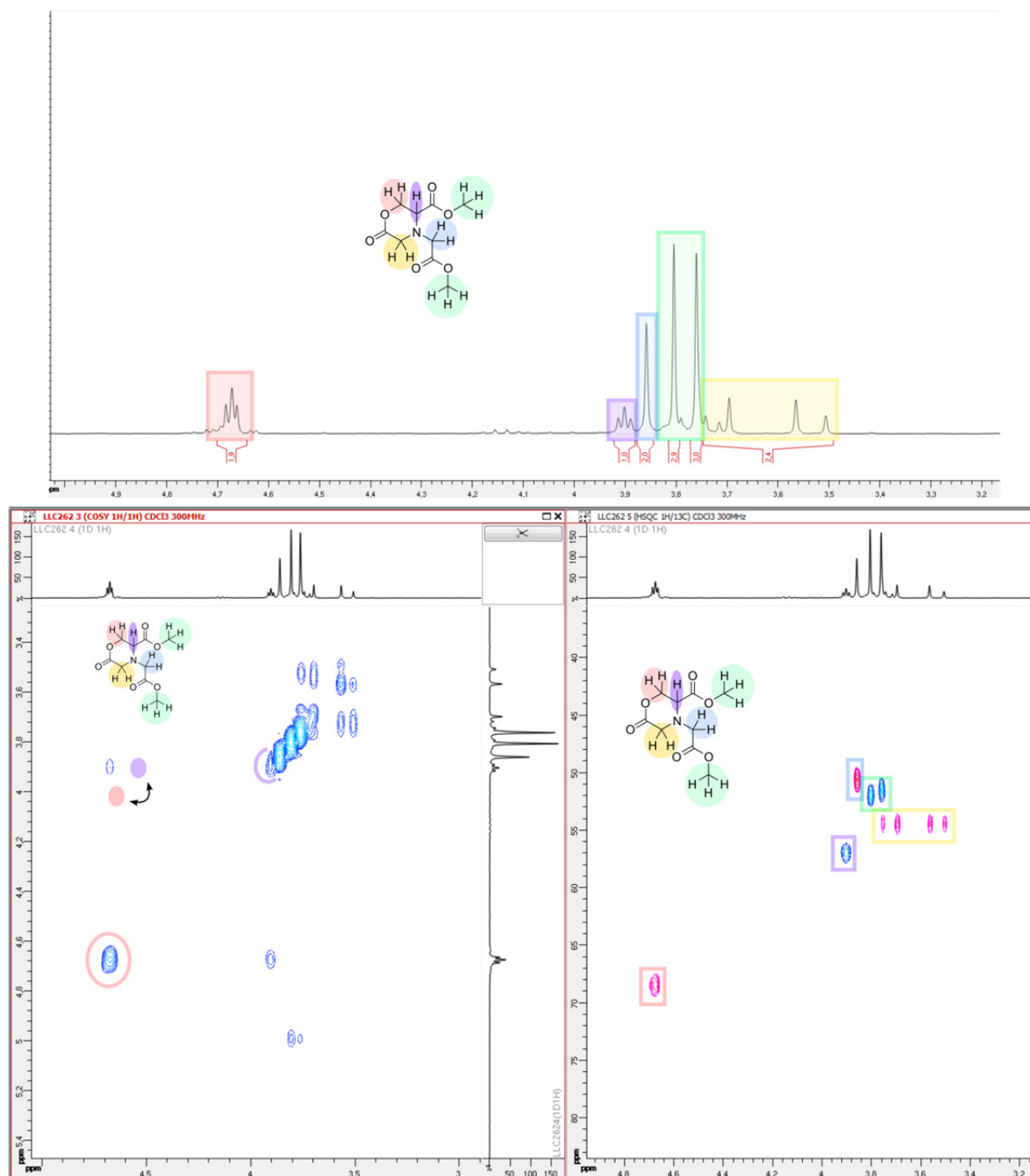


Figure 89 : Spectres RMN du produit isolé à l'issue de la réaction d'alkylation de l'amine primaire **41**. En haut, spectre 1H 300MHz. En bas à gauche, spectre COSY et, à droite, spectre HSQC enregistrés à partir du même échantillon. L'attribution du spectre 1H est réalisée à l'aide des spectres 2D et montre que le produit obtenu est en fait la lactone **45** obtenue par réaction d'estérification intramoléculaire spontanée après l'alkylation de l'amine.

L'étude de ces spectres montre que le produit formé ne présente que deux groupements méthyle au lieu des trois groupements attendus dans la molécule **40** envisagée. En effet, on peut voir deux taches

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

de corrélation de phase positive (bleues) en HSQC au niveau des signaux qui intègrent pour 3 sur le spectre ^1H . Par ailleurs, les différents spectres enregistrés montrent un système de couplage donnant 4 pics entre 3,50 et 3,75 ppm qui correspondent à un groupement CH_2 comme l'indique la tache de corrélation de phase négative (rose) sur le spectre HSQC. Ce système de couplage est représentatif de deux protons diastéréotopiques dans une géométrie contrainte comme un cycle. Ces différents indices laissent à penser qu'une fois la réaction d'alkylation réalisée, le produit obtenu réagit spontanément de manière intramoléculaire pour former la lactone **45** qui explique les spectres RMN obtenus. Le bilan de la réaction peut ainsi être représenté en figure 90. La formation de la molécule **41** est représentée en pointillés car, n'ayant aucune preuve de sa formation, il n'est pas possible d'être catégorique sur l'ordre des étapes élémentaires lors du mécanisme de la réaction. En particulier, on peut se demander si la réaction de lactonisation a lieu avant, après ou en même temps que la seconde alkylation sur l'amine.

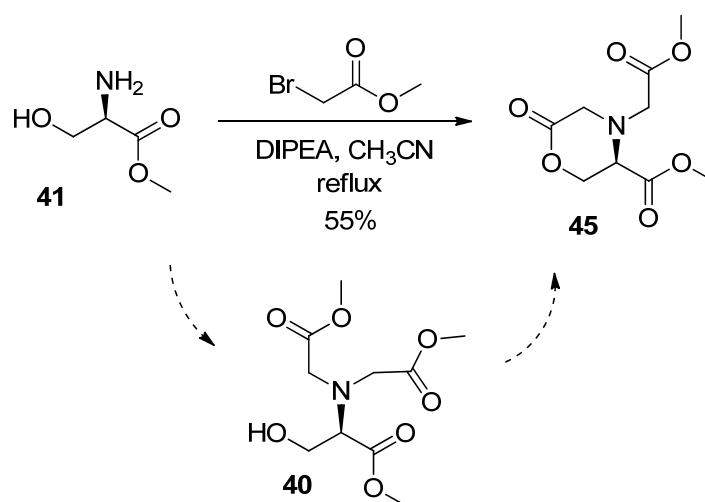


Figure 90 : Bilan de la réaction d'alkylation de l'amine primaire **41**. Le produit d'alkylation **40** est sûrement obtenu intermédiairement puis évolue spontanément pour donner la lactone **45**.

Ce résultat nous a tout d'abord amené à penser que les conditions de réactions étaient trop dures et favorisait la formation de la lactone. La même réaction a donc été tentée dans des conditions plus douces, c'est-à-dire un chauffage à 60°C au lieu de 80°C et en un temps de réaction plus court (8 h au lieu de 50 h). Après traitements, l'analyse de brut réactionnel par RMN donne des signaux plus complexes qui laissent penser qu'il y a un mélange des molécules **40** et **45** dans l'échantillon. Devant l'obtention de ce mélange, nous nous sommes demandé s'il était possible de l'engager directement dans les conditions de formation du mésylate. Notre raisonnement était alors que les molécules de **40** contenues dans le mélange réagiraient dans ces conditions pour former le mésylate **38**. Ce dernier ne pourrait alors plus évoluer vers la lactone **45** puisque la nucléophilie de la fonction alcool n'y est plus présente. Nous pensions ainsi obtenir un mélange de molécules **38** et **45** qu'il aurait fallu séparer par la suite. Par ailleurs, la réaction de lactonisation étant réversible, nous espérions pouvoir déplacer l'équilibre d'ouverture de la lactone en faisant réagir l'alcool **40** dans les conditions de méthylation. Le

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

mélange final aurait ainsi contenu une proportion accrue de mésylate **38**. Le brut réactionnel, que nous supposons contenir un mélange de **40** et **45**, a donc été placé en présence d'un excès de chlorure de mésyle (1.5 équivalent) dans la pyridine et le tout a été agité une nuit à température ambiante. Le lendemain, le mélange réactionnel a été traité et le brut réactionnel analysé par RMN. Malheureusement à ce stade, seul la lactone **45** était présente dans l'échantillon. Devant ces résultats, il nous est apparu très compliqué de continuer dans la voie des esters méthyliques, nous avons donc pris pour nouvelle cible le mésylate **39** qui porte des esters tertbutyliques.

Une nouvelle analyse rétrosynthétique analogue à celle menée précédemment permet d'obtenir la molécule recherchée en deux étapes (Figure 91).

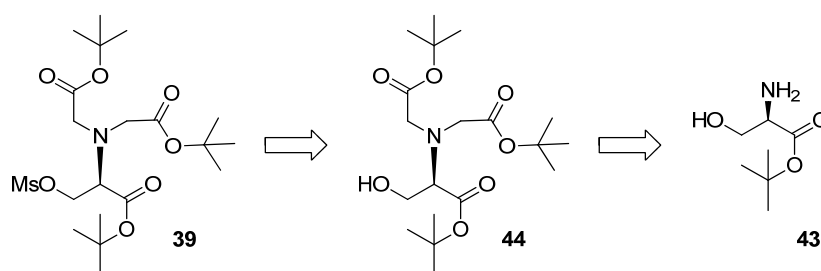


Figure 91 : Analyse rétrosynthétique du mésylate **39**. Le groupement mésylate est introduit à partir de l'alcool **44**. Ce dernier est obtenu par alkylation de l'ester tertbutylique de la D-sérine **43**.

Le mésylate recherché **39** est issu de l'alcool primaire correspondant **44**. Ce dernier est déjà décrit dans la littérature et est obtenu par la réaction d'alkylation présentée plus haut à partir de l'ester tertbutylique de la D-sérine **43**. Cette dernière molécule étant commerciale et disponible au laboratoire nous n'avons pas envisagé sa synthèse à partir de la D-sérine.

La première réaction a donc été réalisée à partir de l'amine primaire **43** dans les conditions décrites précédemment. Des résultats similaires à ceux de la littérature sont obtenus pour cette réaction. Une fois la molécule **44** obtenue, celle-ci a été engagée dans une réaction de mésylation en présence d'un excès de chlorure de mésyle dans un mélange pyridine/dichlorométhane. Après une nuit de chauffage au reflux, la réaction est traitée, puis le brut est purifié par colonne de chromatographie. Le produit isolé a été analysé par RMN. Le spectre RMN ^1H du réactif **44** et les spectres ^1H et COSY du produit isolé **46** après colonne de chromatographie sont présentés en figure 92.

La comparaison des spectres du réactif et du produit montre clairement la disparition de la fonction alcool et l'apparition d'un nouveau système de couplage. On peut également remarquer que le spectre RMN ^1H du produit ne montre pas de signal qui pourrait correspondre à un groupement méthyle d'un mésylate. Le produit isolé n'est donc pas le mésylate escompté mais une analyse plus poussée des spectres RMN permet d'attribuer les signaux à l'aziridinium **46** qui se forme spontanément à partir du mésylate **39**.

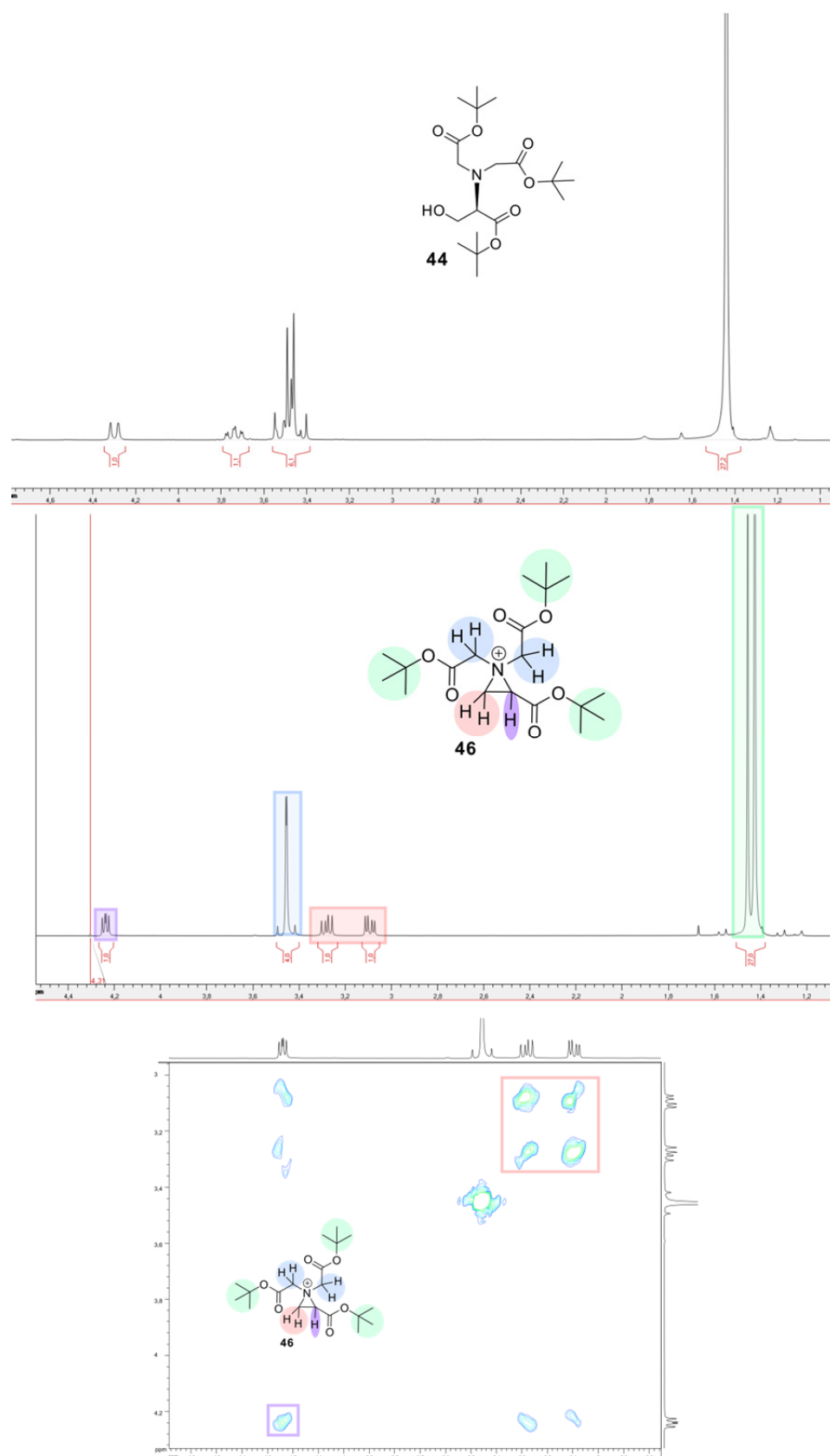


Figure 92 : En haut : spectre ^1H du réactif 44 où l'on voit bien le signal de l'alcool vers 4,3 ppm. Au milieu : spectre ^1H du produit isolé 46. On ne voit plus le signal de l'alcool, mais on ne voit pas non plus de signal pour le méthyl d'un groupement mésylate. L'attribution est en partie faite avec l'aide du spectre COSY présenté en bas. Pour plus de clarté, les atomes d'hydrogène portés par les groupements tertbutoxy sur l'aziridinium 46 n'ont pas été représentés.

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

Une réactivité similaire sur des systèmes proches est décrite par l'équipe de H.S. Chong en 2010¹⁸⁴.

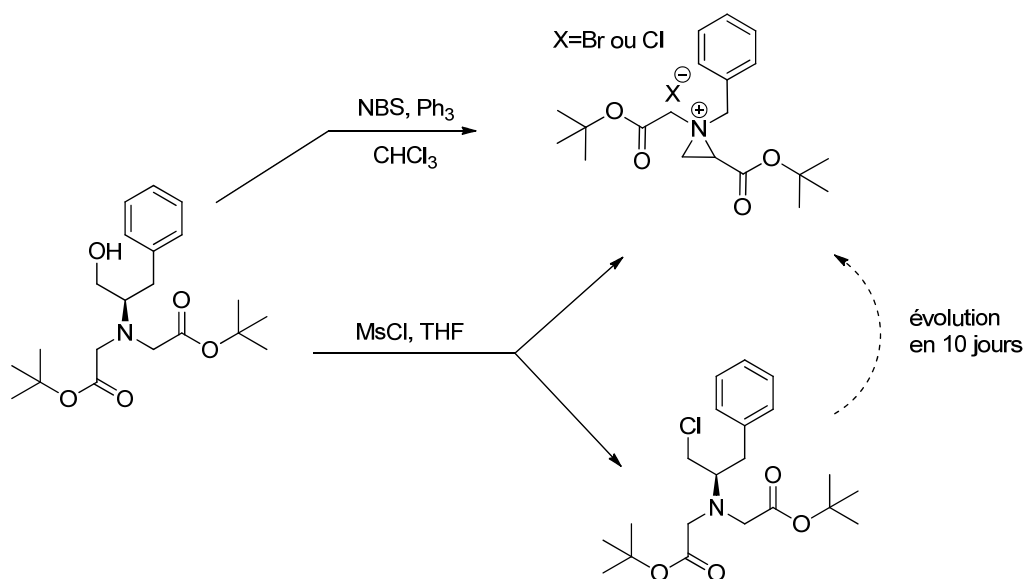


Figure 93 : Formation d'aziridinium décrite par le groupe de H. S. Chong.¹⁸⁴

Il n'est donc pas possible de synthétiser le mésylate **39** dans ces conditions, celui-ci réagissant de manière intermoléculaire pour donner l'aziridinium **46** (Figure 94).

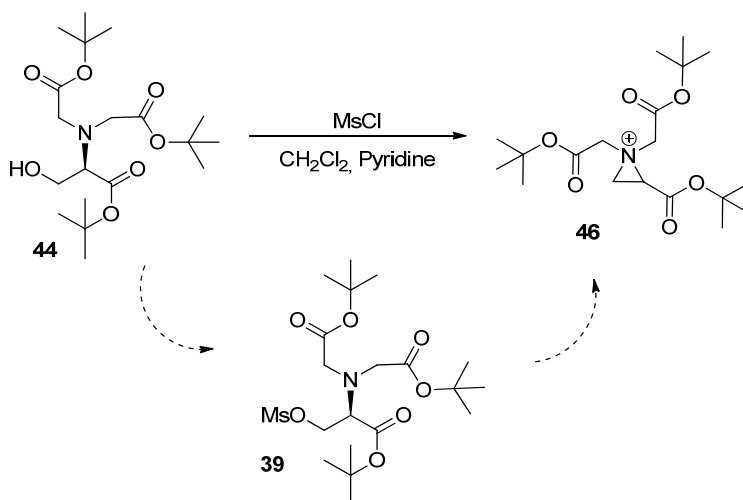


Figure 94 : Bilan de la réaction de formation de l'aziridinium **46**.

Cependant, les aziridiniums sont de bons intermédiaires de synthèse car il est possible de procéder à l'ouverture du cycle en présence d'un nucléophile et cela avec de bonnes stéréospécificités.¹⁸⁵ Il est donc envisageable de réaliser une réaction de couplage entre la plateforme **36** et l'aziridinium **46**. Une autre possibilité est de synthétiser un bras NTA légèrement plus long en prenant comme point de départ non plus la sérine mais l'homosérine. Faute de temps, ce travail n'a pas pu être réalisé avant la fin de ces travaux de thèse, cependant il fera l'objet d'études ultérieures.

VIII. Conclusion et perspectives

Ce chapitre consacré à la synthèse a permis de montrer que nous pouvions préparer un ensemble de nouveaux cryptophanes présentant les caractéristiques recherchées pour la complexation du xénon ou des cations métalliques. Les différentes synthèses ont été réalisées pour obtenir de larges quantités de produits et les protocoles établis peuvent à présent mener à des composés à des échelles allant de plusieurs centaines de milligrammes au gramme. L'objectif que nous avons fixé pour ces travaux de thèse était de créer des plateformes moléculaires présentant une fonction chimique latérale dont la réactivité pouvait être différenciée de celle des fonctions portées par les groupements aromatiques.

La première génération de plateformes est basée sur l'obtention d'une fonction alcool secondaire portée par l'une des chaînes pontantes. Nous avons ainsi montré qu'il était possible de synthétiser le cryptophane polyphénolique **1** qui remplit le cahier des charges pour la complexation des cations métalliques et dont l'étude des propriétés d'encapsulation fera l'objet du chapitre 4. Les cryptophanes **2** et **3**, présentant respectivement des groupements acide carboxylique et PEG au niveau des aromatiques, ont ensuite été obtenus. Ces deux cryptophanes hydrosolubles ont toutes les caractéristiques nécessaires à l'encapsulation du xénon. Les propriétés d'encapsulation du gaz hyperpolarisé sont étudiées en détail au cours du chapitre suivant. Ces trois cryptophanes constituent des plateformes intéressantes pour les objectifs fixés. Les essais de fonctionnalisation menés sur la fonction alcool latérale du cryptophane **25** (qui comporte des fonctions ester) ont permis l'obtention de la cétone **28** et du mésylate **27**. Cependant, les essais d'alkylation sur les cryptophanes **25** et **27** n'ont pas été fructueux jusqu'à ce jour. D'autres essais pourront être effectués pour fonctionnaliser cette première génération de plateformes, mais ce manque de réactivité nous a poussés à développer une nouvelle génération pour laquelle la fonction réactive est éloignée du cryptophane par une chaîne éthyle.

Les nouveaux cryptophanes synthétisés dans cette famille présentent eux aussi les caractéristiques recherchées pour l'encapsulation des cations métalliques ou du xénon. Dans le futur, il faudra confirmer la possibilité de fonctionnaliser ces nouvelles plateformes par l'introduction d'une entité de reconnaissance pour les biosondes ou encore par la fixation sur une particule, pour les applications de dépollution des eaux.

Dans le même temps, des essais de développement d'un bras de reconnaissance basé sur un motif NTA ont obtenu des résultats inattendus, mais non moins prometteurs. En effet, la formation de l'aziridium **46** permet l'introduction d'un bras de reconnaissance de type NTA en mettant en jeu l'électrophilie de celui-ci.

Chapitre 3: Étude des plateformes par RMN du xénon-129

I. Étude de la complexation du xénon par spectroscopie RMN du ^{129}Xe hyperpolarisé

Nous avons présenté au chapitre 2 les différentes plateformes pour la préparation de biosondes au xénon synthétisées au cours de ces travaux de thèse. Afin de s'assurer que ces molécules possèdent bien les caractéristiques requises, les propriétés de complexation de certaines de ces structures envers le xénon ont été étudiées. Toutes les études suivantes ont été réalisées en collaboration avec Patrick Berthault et son équipe au sein du CEA de Saclay. P. Berthault dispose d'un équipement permettant de produire du xénon hyperpolarisé par pompage optique (procédé SEOP). Le dispositif utilisé permet d'atteindre des polarisations nucléaires de 0,2 à 0,4 (la polarisation à l'équilibre thermodynamique est de 10^{-5} dans le champ magnétique utilisé de 11.7T).

Afin d'être en mesure d'interpréter les résultats obtenus, il est important de rappeler le cahier des charges pour l'obtention de biosondes performantes. Cela se fera par la présentation des dernières avancées réalisées en termes de techniques de spectroscopie RMN pour la détection du xénon hyperpolarisé, puis nous expliciterons les mesures réalisées et les résultats obtenus.

I.1. Avancées dans la détection du xénon, la spectroscopie Ultrafast UFZ

Dans le premier chapitre de ce manuscrit, nous avons présenté la mise en œuvre de la technique d'HyperCEST qui permet un grand gain de sensibilité et la détection de biosondes à des concentrations très faibles (micromolaires, voire nanomolaires). Dans cette technique, une irradiation radiofréquence est appliquée sur l'échantillon de manière à saturer sélectivement la fréquence des noyaux de xénon encapsulés dans un cryptophane. L'acquisition est ensuite réalisée en observant l'intensité du signal majoritaire correspondant au xénon en solution. En général, un ensemble d'acquisitions sont réalisées pour lesquelles la fréquence de saturation balaye une gamme de fréquence permettant de sonder les différents environnements chimiques du xénon encapsulé dans l'échantillon. Ces acquisitions peuvent être rassemblées au sein d'un même spectre représentant l'intensité du signal du xénon dans la solution en fonction de la fréquence de saturation appliquée. Un tel spectre est appelé un spectre Z et permet de visualiser l'effet HyperCEST en fonction de la fréquence de saturation. En procédant de cette manière, il est possible de détecter plusieurs processus d'échange du xénon donnant lieu à un effet d'HyperCEST. Il est par exemple possible de détecter la présence du xénon dans une biosonde liée ou non à sa cible, comme le montrent les résultats obtenus par l'équipe de L. Schröder en 2014 pour la biosonde permettant la détection des cellules cancéreuses présentée au premier chapitre.¹⁰⁷ La figure 95 montre les différents environnements chimiques présents dans l'échantillon, ainsi que les spectres obtenus par détection directe et par détection HyperCEST. Sur le premier spectre, correspondant à une détection directe, on ne peut pas voir le signal du xénon encapsulé dans la biosonde internalisée dans les cellules cancéreuses. En revanche, avec une détection par HyperCEST du même échantillon, le spectre Z obtenu montre clairement la présence de deux signaux pour le

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

xénon encapsulé dans la biosonde. L'un correspond à la biosonde libre dans le milieu tandis que l'autre est généré par la biosonde internalisée.

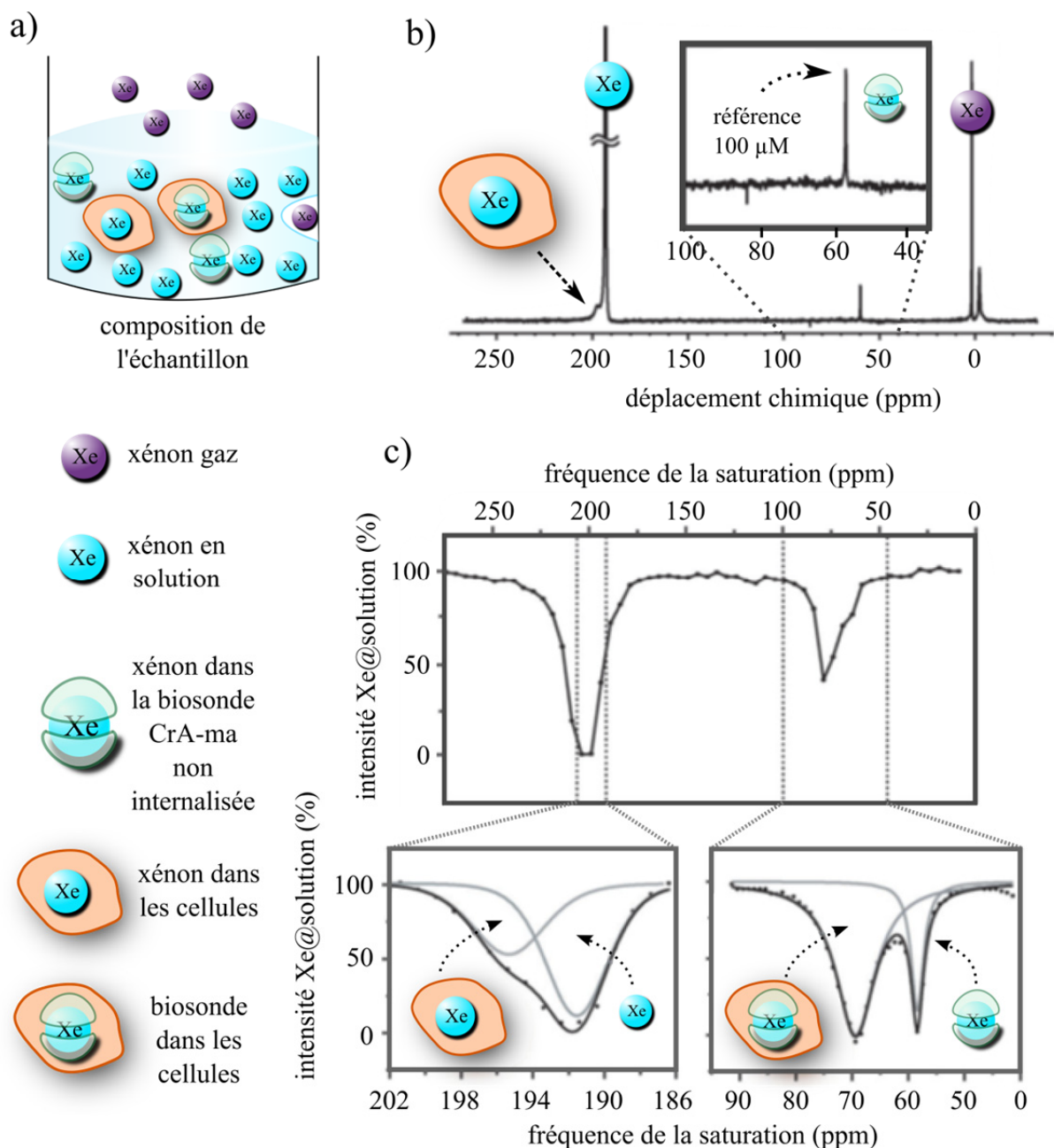


Figure 95 : a) Composition de l'échantillon et les différents environnements chimiques détectables pour le xénon. b) Spectre RMN du xénon-129 hyperpolarisé par détection directe en 64 scans. On ne peut pas distinguer le signal dû au xénon dans les biosondes internalisées. c) Spectre HyperCEST du même échantillon qui permet de détecter le faible signal du xénon dans les biosondes internalisées (signal à 69 ppm). Le signal est distant de 11 ppm de celui du xénon dans les biosondes non internalisées qui sert de référence.¹⁰⁷

La mise en œuvre de cette technique repose sur l'utilisation de cryptophanes présentant des constantes d'échange d'entrée et de sortie du xénon favorisant l'effet HyperCEST. Il est particulièrement intéressant de pouvoir détecter plusieurs environnements du xénon dans le même échantillon puisque cela laisse envisager la détection de plusieurs phénomènes de manière concomitante (méthode dite du multiplexing). Cependant, dans son application classique, cette méthode demande un grand nombre

d'acquisitions pour pouvoir faire varier la valeur de la fréquence de saturation. Cela peut poser un problème, à la fois vis-à-vis de l'évolution de l'état d'hyperpolarisation du xénon dans l'échantillon au cours des nombreuses acquisitions, mais aussi par rapport à la stabilité temporelle du phénomène observé. Pour résoudre les problèmes liés à la perte de polarisation du xénon au cours de l'expérience, des réacteurs spéciaux ont été mis au point pour permettre un apport continu en noyaux hyperpolarisés au sein de l'échantillon.^{106,107} Cependant, ce type de fonctionnement semble difficilement applicable à des études *in vivo*, ce qui est *in fine* le but de ces études.

Une autre solution a récemment été apportée par la mise au point de nouvelles séquences de RMN permettant l'obtention de la totalité du spectre Z en seulement 2 scans et en quelques secondes. Cette nouvelle technique est appelée Ultrafast Z Spectroscopy ou spectroscopie UFZ. Elle est basée sur la RMN dite Ultrafast, déjà connue pour permettre l'obtention rapide de spectres 2D de type COSY ou HSQC.¹⁸⁶ Le principe de base est que l'application d'un gradient de champ selon l'une des directions de l'échantillon, généralement selon l'axe z du tube, permet de modifier la fréquence de résonance des noyaux présents en fonction de leur coordonnée z. L'échantillon se retrouve alors « découpé » en une série de tranches de coordonnée z_i qui peuvent être différenciées, puisque les noyaux qui s'y trouvent n'ont plus, dorénavant, la même fréquence de résonance (Figure 96).

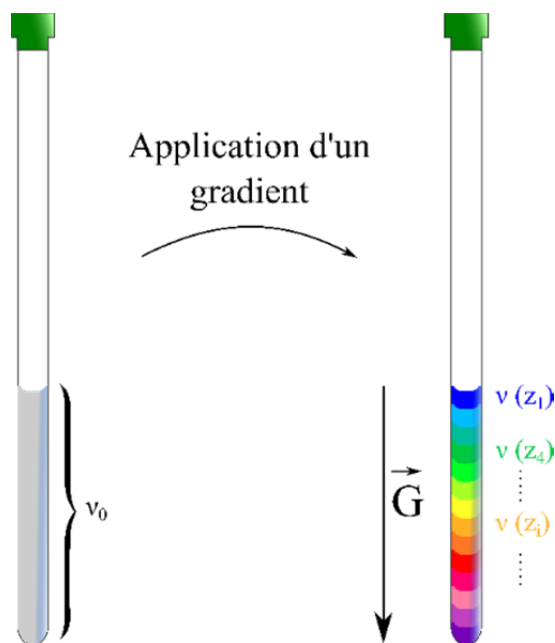


Figure 96 : Effet de l'application d'un gradient selon la direction z du tube RMN. Initialement tous les noyaux résonnent à une fréquence ν_0 alors qu'en présence d'un gradient de champs selon la direction z, la fréquence de résonance est modifiée selon leur coordonnée z.

Être capable de différencier les tranches permet de les exciter et de faire évoluer les spins qui s'y trouvent de manière différente, comme si l'on réalisait un ensemble d'expériences, mais le tout en une seule acquisition. Un nouveau gradient est appliqué pendant l'acquisition, de manière à permettre la

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

lecture des différentes informations acquises dans chaque tranche. Au bilan, tout se passe comme si de nombreuses conditions d'excitation et d'évolution des spins étaient testées en une seule acquisition. Pour les spectres 2D, cette technique permet d'obtenir l'ensemble des données en une seule acquisition.

En 2013, l'équipe d'A. Jerschow a proposé l'application de cette méthode à l'étude des phénomènes d'échange, c'est-à-dire la combinaison de celle-ci avec une technique de type CEST.¹⁸⁷ Avec cette mise en œuvre, un spectre Z complet peut être obtenu en seulement deux scans. Au cours du premier scan, aucune saturation n'est appliquée, mais on détecte le signal en présence d'un gradient (G_{acq}), ce qui donne le profil du tube (comme une image à 1 dimension). En revanche, le second scan est réalisé en appliquant la séquence d'impulsions radiofréquences présentée sur la figure 97, c'est-à-dire en appliquant une saturation de fréquence fixe (ν_{sat}) en même temps qu'un gradient (G_{sat}), puis en réalisant l'acquisition en présence du même gradient de lecture G_{acq} .

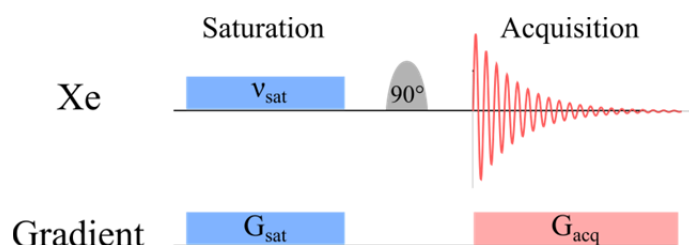


Figure 97 : Séquence d'impulsions radiofréquences utilisée pour réaliser le spectre avec saturation lors des expériences UFZ. Une onde radiofréquence est envoyée à la fréquence ν_{sat} pendant que l'échantillon est soumis au gradient de saturation G_{sat} . L'acquisition se fait par la suite en présence d'un gradient de lecture G_{acq} .

Comme présenté plus haut, l'application d'un gradient G_{sat} permet un encodage spatial du tube. Ce dernier est alors découpé en tranches pour lesquelles l'écart à la saturation varie avec la coordonnée z (Figure 98). Tout se passe ainsi comme si l'on procédait à un balayage en fréquence de la saturation, comme pour l'obtention d'un spectre Z classique, sauf que la saturation est en réalité fixe et que c'est la fréquence de résonance des noyaux qui varie. L'acquisition en présence du gradient de lecture permet alors l'obtention du spectre avec saturation. La soustraction des spectres avec et sans saturation et la normalisation du résultat obtenu fournissent enfin le spectre Z de l'échantillon.

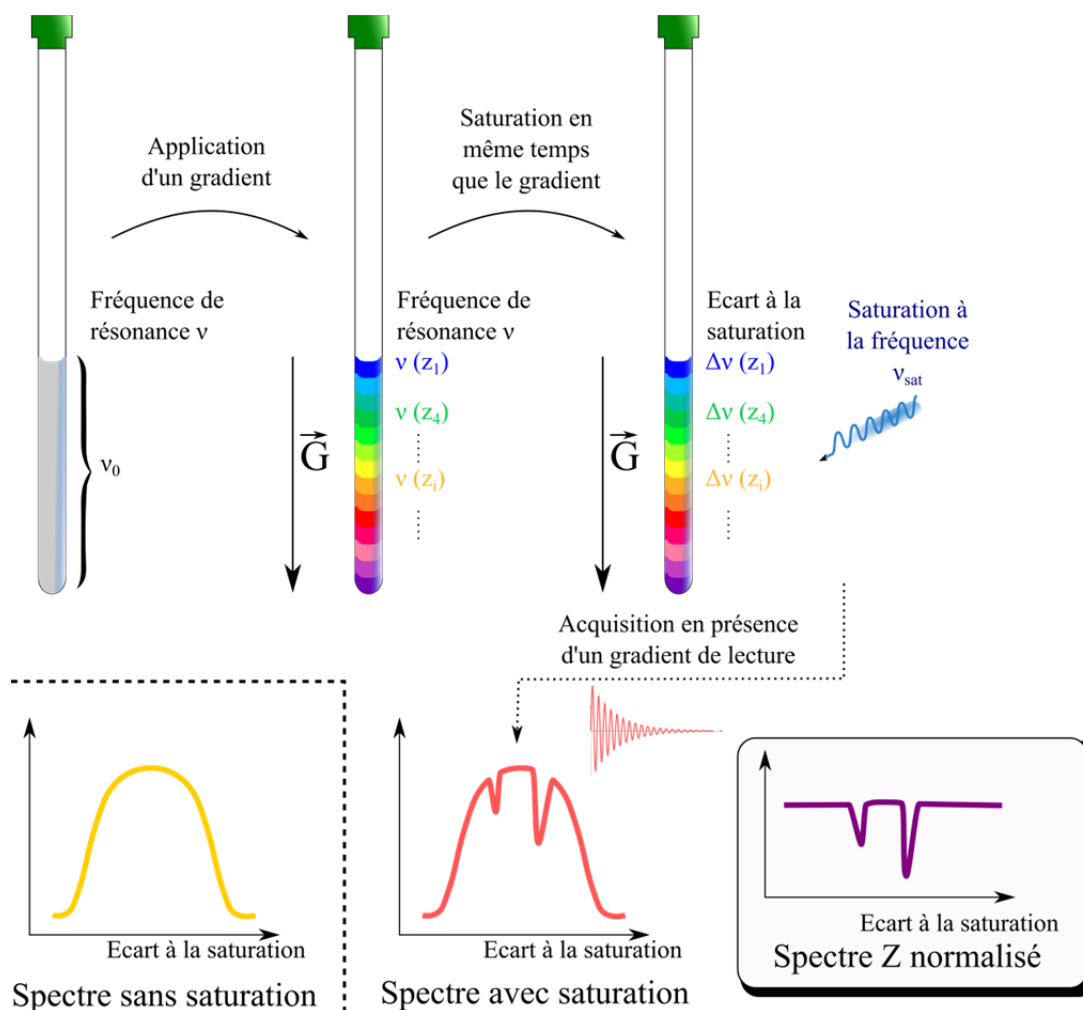


Figure 98 : Principe de la technique de spectroscopie UFZ appliquée à un phénomène d'échange. Un premier spectre (dans l'encart inférieur gauche) est obtenu sans saturation, puis un second spectre est obtenu en présence d'une saturation, enfin, après soustraction et normalisation, le spectre Z est obtenu (encart inférieur droit).

Devant la réussite de ces expériences, l'application de cette technique aux expériences d'HyperCEST a été mise au point par l'équipe de P. Berthault¹⁸⁸ (puis quelques mois plus tard par l'équipe de L. Schröder¹⁸⁹). Pour cela, des échantillons contenant un mélange des cryptophanes hexa-acides [222] (CH_2COOH)₆ et [233] (CH_2COOH)₆ aux concentrations respectives de 30 et 90 μM ont été analysés. Les résultats obtenus sont présentés en figure 99 et montrent les spectres obtenus avec et sans saturation (a) et le spectre Z obtenu après normalisation (b). Le spectre normalisé montre clairement que les deux environnements du xénon, dans le cryptophane [222] (CH_2COOH)₆ et dans le cryptophane [233] (CH_2COOH)₆, sont bien résolus par cette technique. On peut également voir sur ce spectre que les intensités des pics obtenus pour chacun des cryptophanes étudiés sont fortement modifiées et ne correspondent pas aux proportions des concentrations des deux molécules hôtes. En réalité, les deux cryptophanes étudiés présentent des caractéristiques assez différentes vis-à-vis de l'encapsulation du xénon. En effet, le cryptophane [222] (CH_2COOH)₆ a une constante d'association avec le xénon de 6800 mol.L^{-1} et une constante cinétique d'échange de 3,2 s^{-1} , alors que le

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

cryptophane [233] (CH_2COOH)₆ a quant à lui des constantes respectives de 2000 M^{-1} et 37 s^{-1} . Ces deux paramètres jouent bien sûr un rôle important sur l'effet HyperCEST, le premier parce qu'il dicte le nombre de cryptophanes qui complexent des noyaux de xénon susceptibles d'être dépolarisés, et l'autre parce qu'il joue sur le nombre de noyaux de xénon qui peuvent être dépolarisés par chaque cryptophane au cours de la période de saturation. Ici, on peut voir que, malgré une constante d'association 3,4 fois plus faible, sa constante d'échange 11,5 fois plus forte fait du cryptophane [233] (CH_2COOH)₆ la molécule hôte donnant le meilleur signal en HyperCEST dans les conditions d'étude, c'est-à-dire avec un gros excès de xénon par rapport aux concentrations de biosondes. Cette différence de sensibilité est clairement visible dans le spectre UFZ présenté en figure 99.

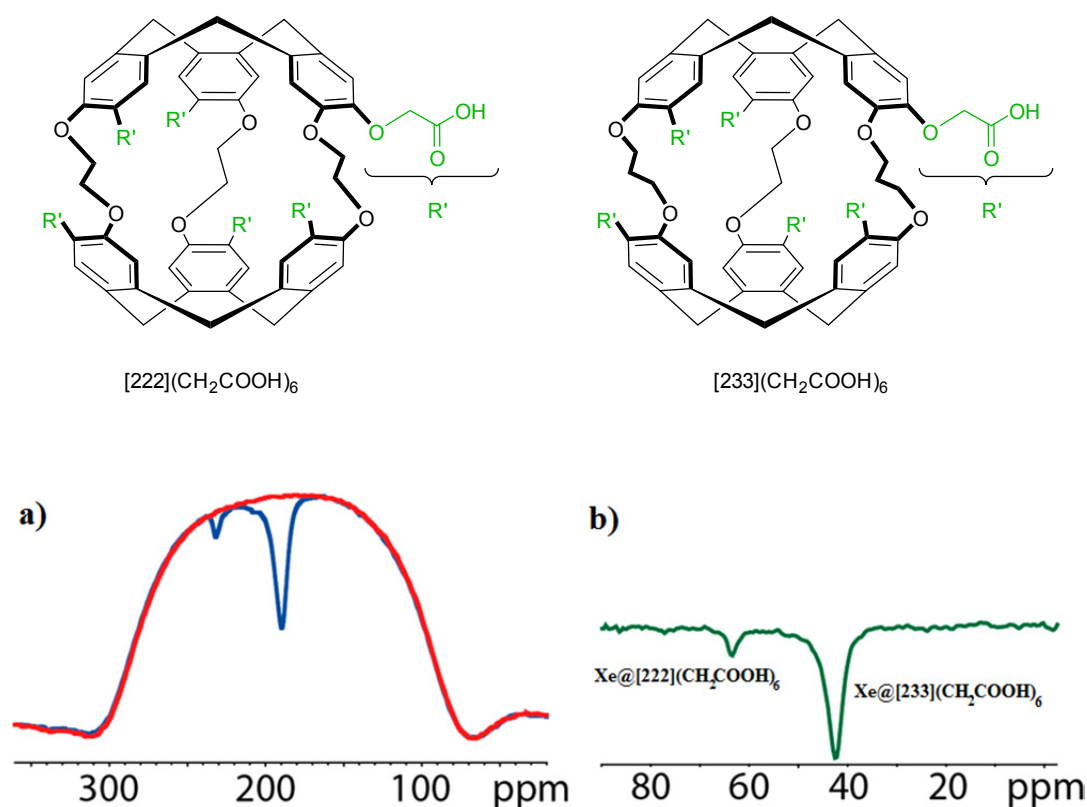


Figure 99 : Spectres RMN UFZ obtenus pour un mélange des cryptophanes [222] (CH_2COOH)₆ et [233] (CH_2COOH)₆. En a) les spectres obtenus sans (rouge) et avec (bleu) saturation de l'échantillon. En b) le spectre Z obtenu après soustraction et normalisation.

Ces nouvelles séquences d'impulsions permettent de faire la totalité des acquisitions sans renouvellement du stock de noyaux hyperpolarisés, ce qui est très prometteur pour de futures applications *in vivo*. Il paraît alors intéressant d'étudier les différentes plateformes que nous avons obtenues pour voir si elles permettent l'obtention de signaux d'intensité satisfaisante par ces techniques. Les études menées sur les plateformes synthétisées au cours de ces travaux de thèse sont ainsi présentées par la suite.

I.2. Résultats obtenus avec les nouveaux cryptophanes synthétisés

Parmi les différents cryptophanes synthétisés au cours de ces travaux, six ont été étudiés par RMN du xénon hyperpolarisé. Les premières études ont été menées sur trois cryptophanes organosolubles en solution dans le 1,1,2,2-tétrachloroéthane deutéré. Ce solvant a été choisi car, très volumineux, il peut difficilement pénétrer dans la cavité des cryptophanes, et, ainsi, risque moins de déplacer l'équilibre de complexation entre les molécules cages et le xénon.

I.2.a. RMN du xénon 129 en milieu organique

Les cryptophanes **4**, **23** et **25** ont été solubilisés dans le 1,1,2,2-tétrachloroéthane deutéré puis du xénon hyperpolarisé gazeux a été introduit dans l'échantillon. Les spectres RMN du ^{129}Xe enregistrés pour ces échantillons sont présentés en figure 100.

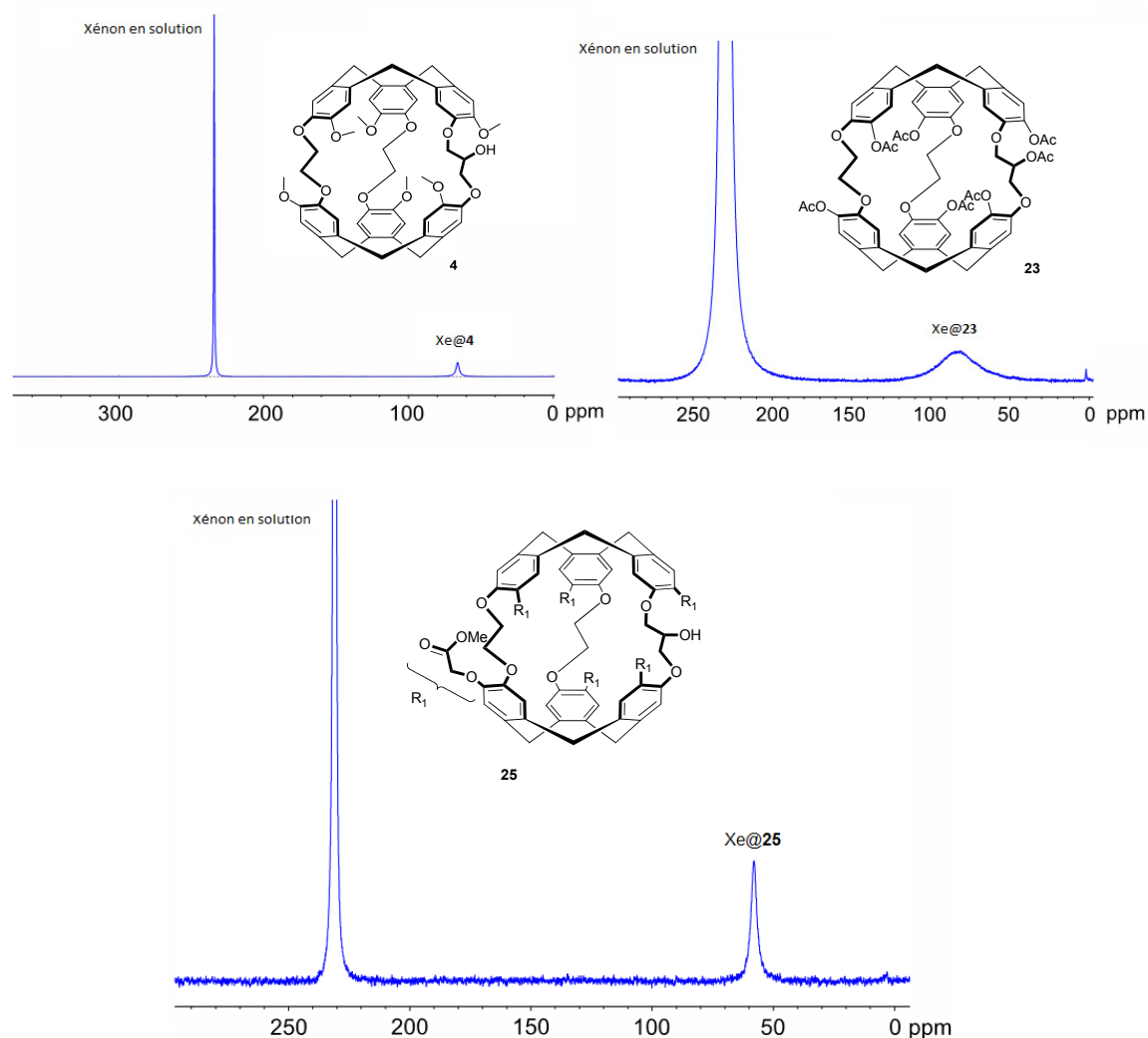


Figure 100 : Spectres RMN du ^{129}Xe obtenus pour les cryptophanes **4** (en haut à gauche), **23** (en haut à droite) et **25** (en bas) en solution dans le tétrachloroéthane deutéré.

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

La première observation qui peut être faite ici c'est que deux comportements semblent se distinguer pour ces trois spectres RMN du xénon 129. En effet, les cryptophanes **4** et **25** donnent un signal du xénon encapsulé fin pour les déplacements chimiques respectifs de 64 ppm et 58 ppm, alors que le cryptophane **23** génère un signal très large pour le xénon encapsulé avec un maximum à 82 ppm. Le comportement observé pour le cryptophane **4** est conforme aux résultats obtenus pour le cryptophane [223](OMe)₆ (signal fin à 60 ppm)⁸⁹ Le cryptophane **25** donne un déplacement chimique légèrement différent pour le xénon encapsulé mais présente un comportement similaire. En revanche, l'allure du signal du xénon encapsulé dans le cryptophane **23** est plus surprenante et indicatrice d'un phénomène différent. L'étude des spectres RMN ¹H réalisée au chapitre précédent permet de comprendre un peu mieux le phénomène mis en jeu ici. En effet, nous avons vu que le signal en RMN du proton du groupement méthyle de l'acétate porté par la chaîne latérale était fortement dépendant du solvant utilisé pour préparer l'échantillon. En solution dans le (CDCl₂)₂, le signal obtenu est large et fortement blindé (-0,5 ppm), ce qui indique que le groupement acétate pénètre, au moins partiellement, dans la cavité du cryptophane. En entrant en partie dans la cavité du cryptophane, le groupement acétate vient sûrement gêner l'encapsulation du xénon et vient interagir avec de dernier, ce qui modifie fortement son environnement chimique. Le signal obtenu pour le xénon encapsulé est alors moins bien résolu et présente un déplacement chimique plus élevé. Ce déplacement chimique plus élevé peut également être dû à la présence de groupement attracteurs sur les aromatiques.

Le bilan de ces premières études est que la structure de base de type [223] avec un groupe hydroxyle sur la chaîne latérale permet une complexation du xénon avec des comportements similaires à ceux observés pour les cages [223] sans groupement hydroxyle latéral. En revanche, la présence d'un groupement acétate sur la chaîne latérale vient gêner la complexation du xénon au sein de la cavité, ce qui génère un signal du xénon encapsulé plus large et plus difficile à détecter. Ces premiers résultats sont très encourageants et ouvrent la porte aux essais sur les cryptophanes hydrosolubles en milieu aqueux.

I.2.b. RMN du xénon 129 hyperpolarisé en milieu aqueux

Parmi les cryptophanes hydrosolubles synthétisés au cours de ces travaux, trois ont été étudiés par RMN du xénon 129 hyperpolarisé. Les cryptophanes **1** et **2** ont été étudiés dans une solution de NaOD à pH=10 afin d'optimiser leur solubilité en milieu aqueux. Le cryptophane **3** portant les groupements PEG est quant à lui soluble dans l'eau à pH neutre, les spectres RMN ont donc été enregistrés dans le D₂O à pH=7. Les spectres expérimentaux obtenus pour ces trois structures sont présentés en figure 101.

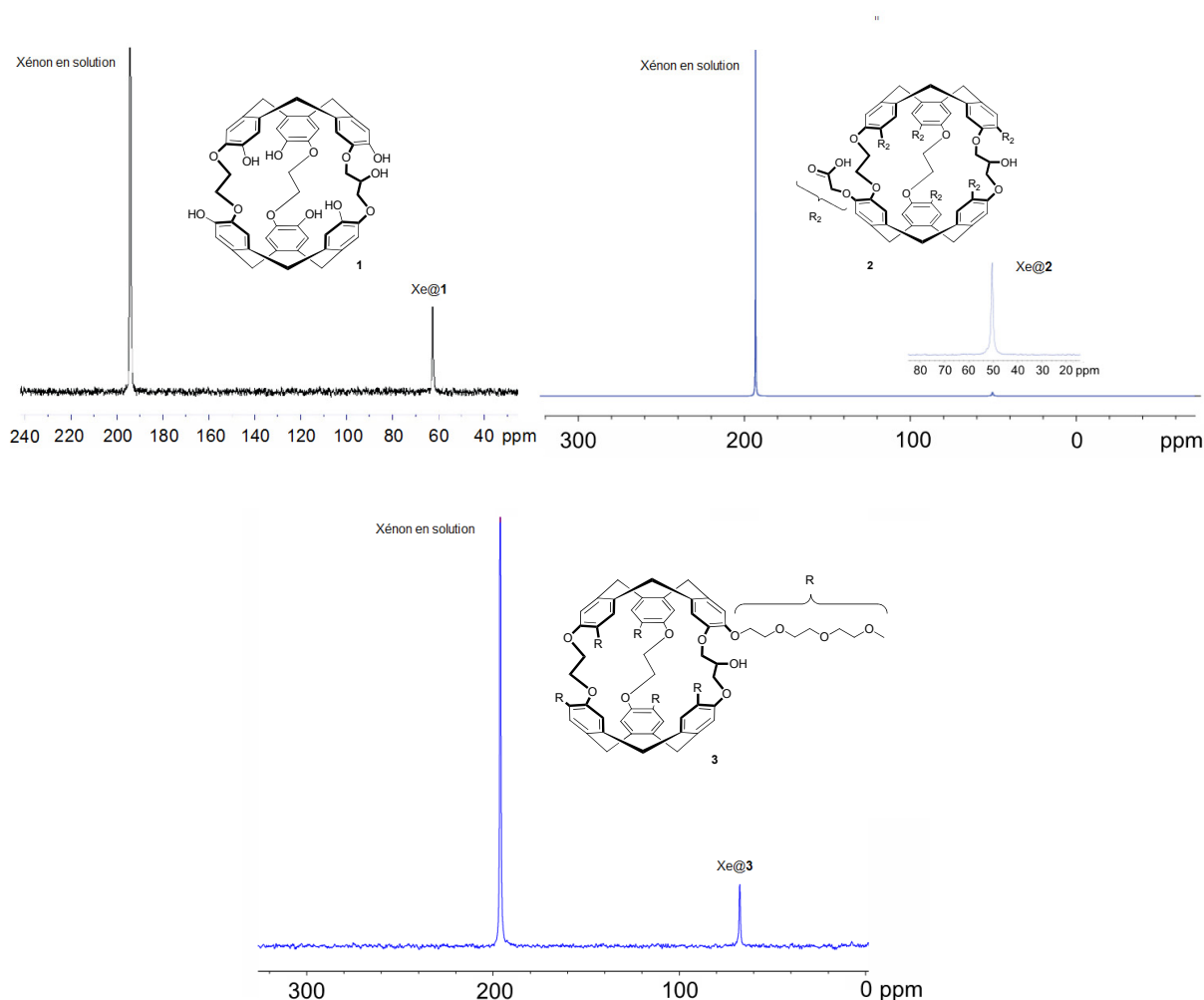


Figure 101 : Spectres RMN du ^{129}Xe obtenus pour les cryptophanes **1** (en haut à gauche) et **2** (en haut à droite) en solution dans NaOD/D₂O (pH=10). En bas : Spectres RMN du ^{129}Xe pour le cryptophane **3** en solution dans D₂O.

Le spectre obtenu pour le cryptophane **1** montre un signal fin et bien défini autour de 63 ppm pour le xénon encapsulé. Pour le cryptophane **2**, un signal fin est également obtenu autour de 50 ppm pour le xénon encapsulé. Enfin, un comportement similaire est obtenu pour le cryptophane **3** dans l'eau deutérée à pH neutre avec un pic correspondant au xénon encapsulé autour de 67 ppm. Ces trois spectres RMN du xénon 129 montrent clairement que les cryptophanes hydrosolubles synthétisés permettent d'encapsuler le xénon en milieu aqueux. Le résultat obtenu pour le cryptophane **3** vient confirmer le constat fait par l'équipe de B. Rousseau⁴¹ : la présence de groupements PEG sur le cryptophane ne gêne pas l'encapsulation du xénon. Par ailleurs, pour les trois structures étudiées ici, l'écart entre les déplacements chimiques du xénon encapsulé et du xénon libre en solution est supérieur à 100 ppm. Ceci indique la présence du régime d'échange lent devant l'échelle de temps RMN et remplit une des conditions nécessaires à la préparation de biosondes pour le xénon 129. Cependant, l'échange d'entrée et de sortie du xénon au sein de la cavité doit demeurer suffisamment rapide pour permettre une bonne détection par des expériences d'HyperCEST. Afin d'étudier la dynamique d'échange du xénon, nous avons réalisé une expérience permettant la comparaison de la

Chapitre 2 : conception et synthèse des plateformes moléculaires

plateforme **3** avec le cryptophane hexa-acide $[222](\text{CH}_2\text{COOH})_6$ qui est la structure classique utilisée pour les biosondes au xénon, et est connue pour avoir des propriétés d'encapsulation du xénon adaptée à de telles applications. Pour réaliser cette comparaison, un échantillon a été préparé en solubilisant un mélange équimolaire de cryptophane **3** et de cryptophane $[222](\text{CH}_2\text{COOH})_6$ dans D_2O . Un premier spectre RMN du ^{129}Xe a été réalisé tout d'abord, puis, un spectre UFZ du même échantillon a été enregistré en appliquant une saturation à la fréquence de 1,7 μT pendant 8 s. Les deux spectres expérimentaux obtenus sont présentés en figure 102.

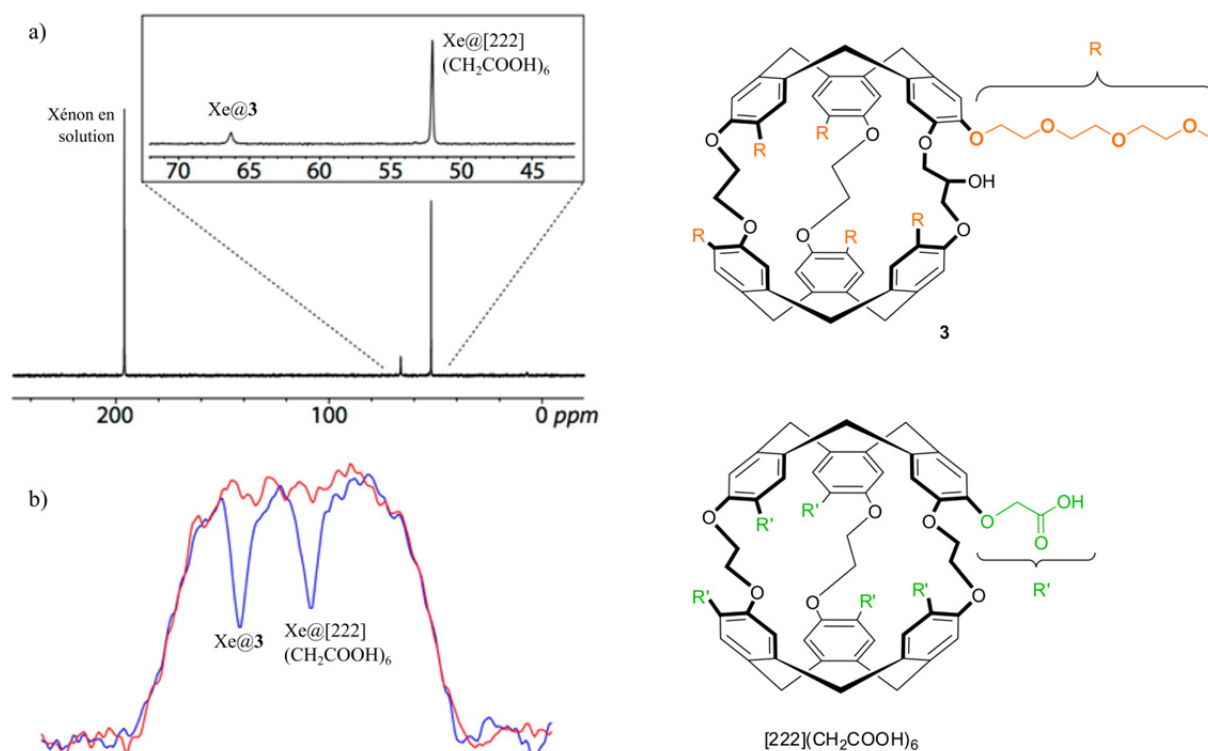


Figure 102 : a) Spectre RMN du xénon 129 réalisé en un scan avec un mélange équimolaire des cryptophanes **3** et $[222](\text{CH}_2\text{COOH})_6$ (93 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) en solution dans le D_2O . b) Spectre UFZ du xénon 129 réalisé pour le même mélange de cryptophanes. La courbe rouge est obtenue sans saturation alors que la courbe bleue est obtenue en appliquant une saturation de 1,7 μT pendant 8s.

Le spectre classique (Figure 102 a)) montre la présence de deux signaux de xénon encapsulé, l'un à 67 ppm qui correspond au signal observé pour le spectre xénon du cryptophane **3** seul (Figure 101), et l'autre à 52,7 ppm, ce qui est conforme aux valeurs précédemment obtenues pour le cryptophane $[222](\text{CH}_2\text{COOH})_6$. Cette expérience de compétition ne nous a pas permis de réaliser de mesure de constante d'association du xénon au sein du cryptophane **3** car, comme nous l'avons vu sur le spectre ^1H du cryptophane **3** (au chapitre 2), celui-ci est présent en solution dans une proportion non négligeable de forme implosée qui n'intervient probablement pas dans la complexation du xénon. La présence de forme implosée peut difficilement être évitée et survient lors de préparation de l'échantillon pour les expériences de RMN. Cette préparation requiert l'élimination de l'oxygène (gaz paramagnétique) en plaçant l'échantillon sous vide, ce qui peut provoquer l'effondrement partiel du cryptophane.

Le spectre UFZ (Figure 102 b)) montre lui aussi deux signaux correspondant au xénon encapsulé dans chacun des types de cryptophanes présents dans l'échantillon. Ces deux signaux présentent des intensités comparables, ce qui indique que l'effet HyperCEST généré par les deux molécules hôtes est comparable. Ce dernier résultat est particulièrement intéressant et vient valider toute la stratégie de conception des plateformes puisque le cryptophane obtenu permet une détection par HyperCEST dans des proportions comparables au cryptophane de référence $[222](\text{CH}_2\text{COOH})_6$. Les études de comparaison n'ont pas été menées sur les autres cryptophanes hydrosolubles **1** et **2**, mais il semble raisonnable de penser que les dynamiques d'échange du xénon ne seront pas tellement modifiées pour ces deux structures par rapport au cryptophanes **3**, puisque la cavité n'est que peu modifiée entre ces trois molécules. On peut donc supposer que les autres plateformes synthétisées à partir de ces mêmes structures mèneront aux mêmes conclusions, à savoir que leurs propriétés de complexation du xénon en font d'excellentes candidates pour la conception de biosondes pour le xénon hyperpolarisé en vue d'une détection par HyperCEST.

II. Conclusion et perspectives

Les essais effectués sur un ensemble de cryptophanes synthétisés au cours de ces travaux de thèse ont montré qu'ils sont capables de complexer efficacement le xénon en milieu organique comme en milieu aqueux. Par ailleurs, les spectres RMN montrent que ces cryptophanes génèrent tous des régimes d'échange d'entrée et de sortie du xénon lents par rapport à l'écart des fréquences de résonance entre le xénon libre et le xénon encapsulé (> 13 kHz). Les différentes structures étudiées donnent des déplacements chimiques différents pour le xénon encapsulé, ce qui laisse envisager d'utiliser plusieurs de ces cryptophanes dans le même milieu afin de détecter plusieurs phénomènes de manière simultanée. Enfin la comparaison réalisée entre la plateforme **3** comportant les groupements PEG et le composé de référence $[222](\text{CH}_2\text{COOH})_6$ montre que la dynamique d'échange du xénon au sein de ces structures est comparable. Cela signifie que la structure envisagée pour les plateformes synthétisées est tout à fait compatible à des détections à l'échelle micromolaire, voire inférieure, par des expériences d'HyperCEST.

Au bilan, les résultats obtenus dans cette partie viennent valider la conception des plateformes synthétisées en vue d'application pour des biosondes au xénon 129. De plus, les quantités synthétisées pour ces molécules sont pour l'instant encourageantes en vue d'une utilisation *in vivo* dans le futur.

Maintenant que les structures des plateformes sont validées, elles peuvent être utilisées pour créer diverses biosondes selon l'unité de reconnaissance que l'on vient introduire au niveau du point d'accroche. Les biosondes ainsi obtenues pourront alors être étudiées plus en détail en bénéficiant d'une détection sensible et efficace du xénon encapsulé.

Chapitre 4: Synthèse de cryptophanes énantiopurs et étude de la complexation des cations métalliques

I. Présentation et objectifs

Comme nous l'avons vu dans le chapitre d'introduction, certains cryptophanes présentent des propriétés de complexation intéressantes envers les cations métalliques comme le Cs^+ et le Tl^+ , pour lesquels les constantes d'association sont très grandes (jusqu'à $K=10^{10} \text{ M}^{-1}$) dans un solvant compétitif comme l'eau. L'utilisation de techniques comme le dichroïsme circulaire permet d'envisager des détections sub-micromolaires de ces cations, ce qui est particulièrement intéressant compte tenu de la toxicité de ceux-ci, et répondrait à un enjeu écologique de taille pour l'analyse des eaux polluées. Au-delà de la simple détection des cations métalliques, les cryptophanes pourraient piéger ces derniers dans un effort de dépollution des eaux. On peut, en particulier, espérer jouer sur le pH de l'eau traitée pour, soit piéger le cation, soit le relâcher. En effet, pour des pH suffisamment basiques, les cations sont piégés dans les cryptophanes. En revanche, si le pH est abaissé de manière à protoner les phénolates présents sur les cryptophanes, ceux-ci ne peuvent plus former d'interactions coulombiennes avec les cations et perdent en théorie leur capacité de complexation. On peut donc supposer qu'un abaissement du pH entraînerait une libération des cations dans la solution aqueuse. On peut alors imaginer tirer profit de ces propriétés pour établir des « filtres » pour les eaux polluées (Figure 103).

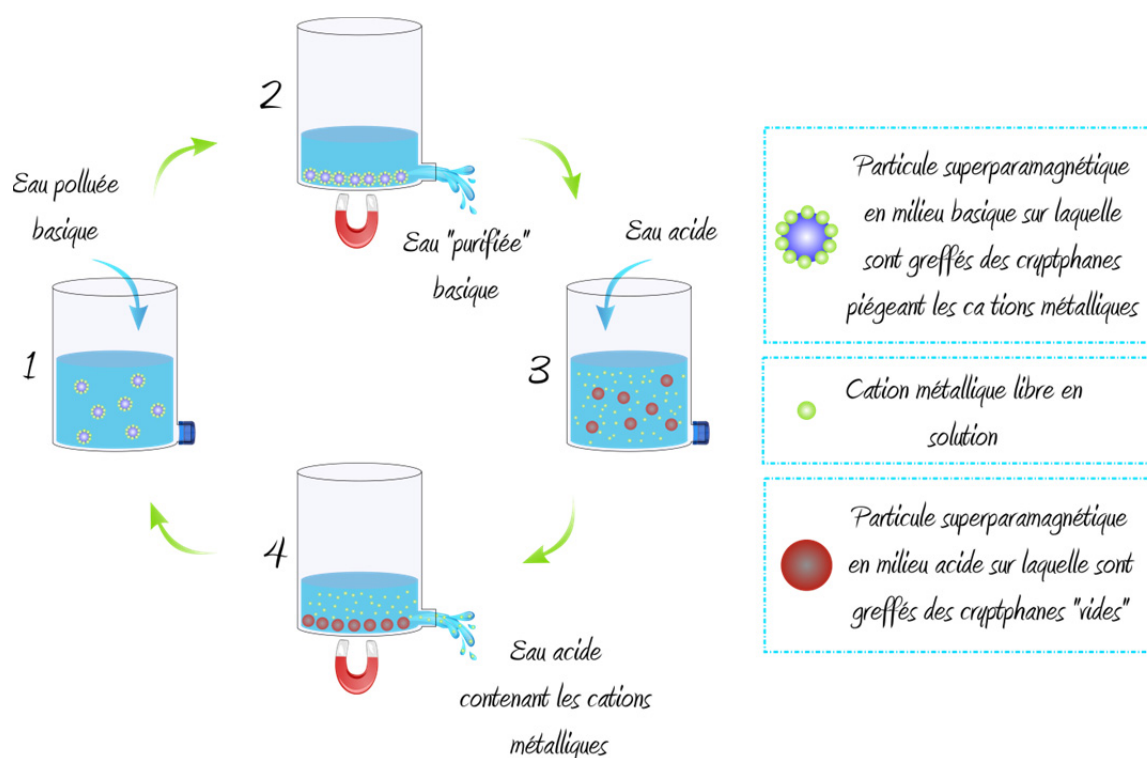


Figure 103 Procédé de purification d'eau en greffant les cryptophanes à la surface de particules superparamagnétiques. (1) En milieu basique les cations métalliques sont piégés dans les cryptophanes. (2) L'eau purifiée est évacuée de la cuve en rappelant les particules magnétiques à l'aide d'un aimant. (3) Ajout d'eau acide provoquant la libération des cations métalliques en solution. (4) Evacuation de l'eau contenant les cations en rappelant les particules magnétiques à l'aide d'un aimant.

Chapitre 4 : Etude de la complexation des cations métalliques

L'idée présentée en figure 103 est d'utiliser des nanoparticules superparamagnétiques sur lesquelles sont greffés les cryptophanes pour purifier de l'eau polluée par des cations Cs^+ ou Tl^+ . La purification suit alors les stades suivants :

- i. La cuve contenant les particules portant les cryptophanes est remplie d'eau polluée à traiter. Cette eau est au préalable rendue basique (ajout de NaOH ou LiOH pour atteindre un pH supérieur à 9) de façon que les cations métalliques soient piégés dans les cryptophanes une fois l'eau introduite dans la cuve.
- ii. L'eau « purifiée » est évacuée tout en maintenant les particules magnétiques au fond de la cuve en apposant un aimant sous celle-ci.
- iii. De l'eau acide est introduite dans la cuve, provoquant la libération des cations métalliques en solution.
- iv. L'eau acide, qui contient à présent les cations métalliques est évacuée de la cuve pour être stockée. Cette vidange se fait de nouveau en présence d'un aimant pour retenir les particules magnétiques et ramener la cuve dans un son état initial à partir duquel elle peut être engagée dans un nouveau cycle de dépollution.

Ce type de procédé, s'il peut être mis au point, serait particulièrement intéressant pour la dépollution des eaux contenant des cations Tl^+ qui restent toxiques même à faible concentration. Un avantage de cette technique par rapport à d'autres systèmes d'extractions présentés au premier chapitre, est qu'il ne nécessite pas l'utilisation de co-solvant organique, lui-même toxique et bien souvent onéreux.

Les cryptophanes polyphénoliques synthétisés avant le début de cette thèse ([222](OH)₆, [223](OH)₆...) présentent des propriétés de complexation compatibles avec de telles applications. Cependant, le seul moyen de les greffer sur des particules est de transformer une des fonctions phénol pour insérer un lien vers la particule. Malheureusement, cela implique la perte d'une interaction coulombienne entre un phénolate et le cation, et donc des constantes d'association plus faibles. À partir de ce constat, les cryptophanes **1** et **34** présentés dans le chapitre 2 ont été préparés (Figure 104). Ces deux structures présentent le grand avantage de laisser envisager l'introduction d'un lien permettant le greffage sur une surface au niveau de la fonction alcool latérale, tout en conservant les six fonctions phénol pour optimiser les propriétés de complexation des cations métalliques.

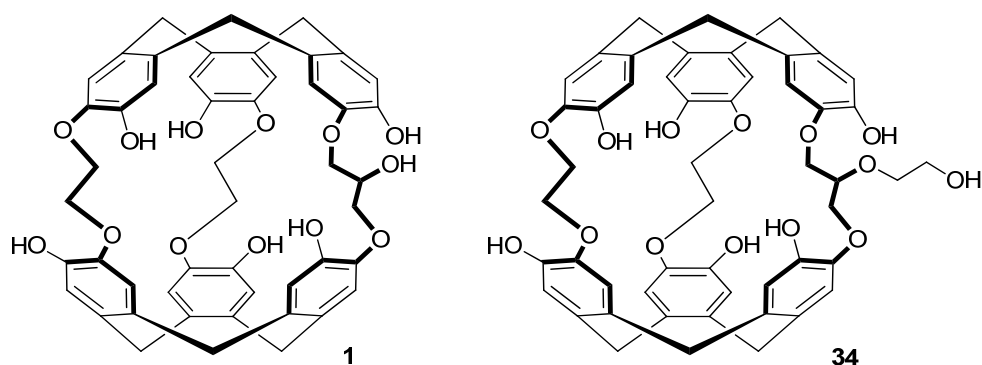


Figure 104 : Structures des cryptophanes **1** et **34** obtenues au cours de ces travaux de thèse.

Ce quatrième chapitre vise ainsi à étudier les propriétés de complexation de cette nouvelle génération de cryptophanes polyphénoliques vis-à-vis des cations Cs^+ et Tl^+ en solution aqueuse basique. Les études présentées ici portent uniquement sur le cryptophane **1** obtenu bien en amont de son congénère **34**. De nombreuses informations concernant les processus de complexation des cations métalliques au sein des cryptophanes peuvent être obtenues en utilisant un ensemble de techniques de caractérisation. Les spectres de dichroïsme circulaire permettent en particulier d'obtenir des informations structurales et permettent de détecter des concentrations très faibles en cation. Cependant cette technique nécessite l'obtention des cryptophanes sous forme énantiopure. La première partie de ce chapitre est ainsi consacrée à la présentation des différentes stratégies d'obtention des cryptophanes énantiopurs et aux résultats obtenus dans cette voie. La seconde partie de ce chapitre traite des études menées sur l'encapsulation des cations Cs^+ et Tl^+ en solution aqueuse au sein de la plateforme moléculaire **1**.

II. Obtention de cryptophanes énantiopurs

À ce jour, plusieurs méthodes ont été adoptées pour permettre l'obtention de divers cryptophanes sous forme énantiopure, chacune présentant des avantages et des inconvénients. Ces dernières sont présentées avant de présenter les résultats obtenus lors de leur application à l'obtention du cryptophane **1** sous forme énantiopure.

II.1. État de l'art

II.1.a. Synthèse asymétrique de cryptophanes énantiopurs

La première synthèse asymétrique permettant l'accès à un cryptophane énantiopur à partir d'un mélange racémique de CTB a été proposée par l'équipe de R. Warmuth en 2008.¹⁹⁰ Dans cette synthèse, le mélange racémique d'un CTB portant trois fonctions aldéhyde réagit avec un excès de (1R,2R)-(-)-1,2-diaminocyclohexane énantiopure, par réaction d'imination, pour obtenir le cryptophane *P,P-R,R,R* sous forme énantiopure (Figure 105).

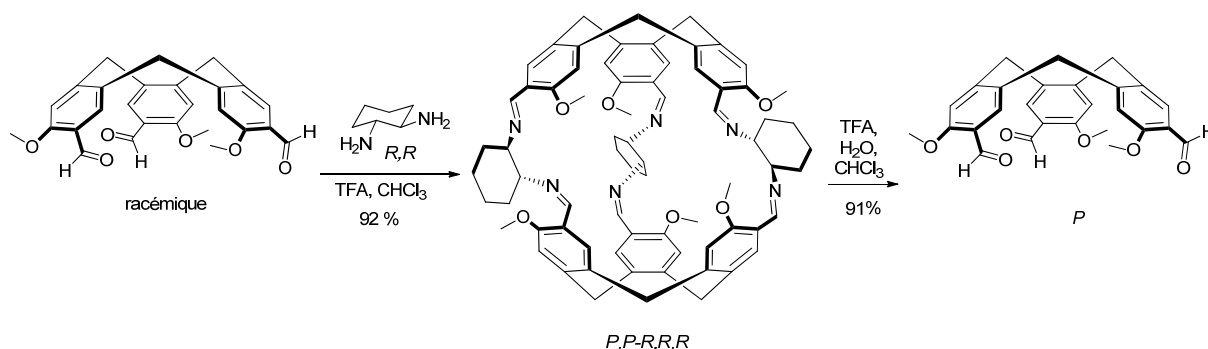


Figure 105 : Synthèse asymétrique du cryptophane de configuration P,P,R,R,R par réaction d'imination, puis hydrolyse de celui-ci pour former le CTB de départ sous forme énantiopure.

Par la suite, le cryptophane énantiopur est hydrolysé pour mener au CTB de départ sous forme énantiopure. La synthèse du cryptophane sert donc, ici, uniquement de voie de dédoublement du mélange racémique de CTB. Cependant, cette stratégie montre la possibilité de former des cryptophanes énantiopurs par réaction asymétrique.

Quelques années plus tard, en 2013, l'équipe de D. Kuck utilise cette stratégie pour dédoubler le mélange racémique d'un CTB portant des fonctions aldéhyde confirmant ainsi la viabilité de cette synthèse.¹⁹¹ Cependant, la mise en œuvre est légèrement différente ici, car la réaction d'imination entre la diamine chirale et le CTB ne mène pas à un unique énantiomère, mais à un mélange de trois diastéréoisomères sous formes énantiopures. Après séparation de ces trois diastéréoisomères, ils mènent chacun respectivement, par réaction d'hydrolyse, aux configurations M et P du CTB et au mélange racémique de celui-ci (Figure 106).

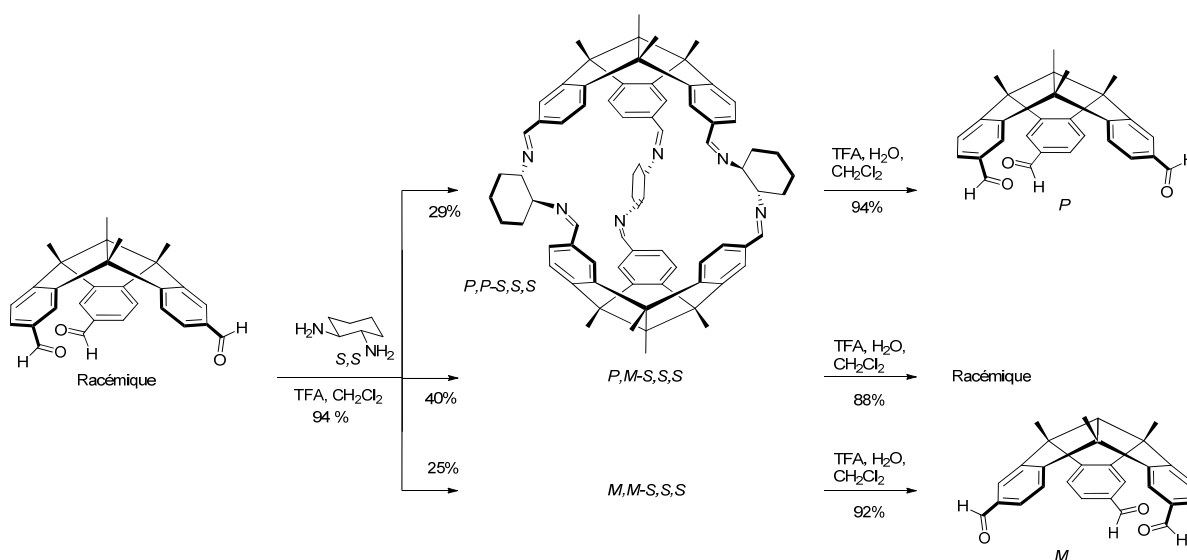


Figure 106 : Séparation partielle du racémique d'un CTB par utilisation d'une synthèse asymétrique de cryptophane menant à 3 diastéréoisomères pouvant être séparés et donnant respectivement après hydrolyse les deux configuration M et P énantiopurs du CTB ainsi qu'un mélange racémique de ce dernier.

Ces synthèses asymétriques sont particulièrement élégantes mais restent limitées à des synthèses par couplage et à des cryptophanes de symétrie C_3 .

II.1.b. Synthèse de cryptophanes énantiopurs à partir des CTB énantiopurs

Il est possible de synthétiser des cryptophanes énantiopurs en partant des CTB eux-mêmes énantiopurs. Cependant, cela demande de faire appel à une synthèse avec des conditions très douces pour éviter la racémisation plutôt aisée du CTB, dont la barrière d'inversion est généralement autour de 100 kJ.mol^{-1} . Cette méthode a été mise en œuvre par l'équipe de J. Crassous en 2006 pour obtenir des analogues soufrés du cryptophane [333] énatioenrichis (Figure 107).

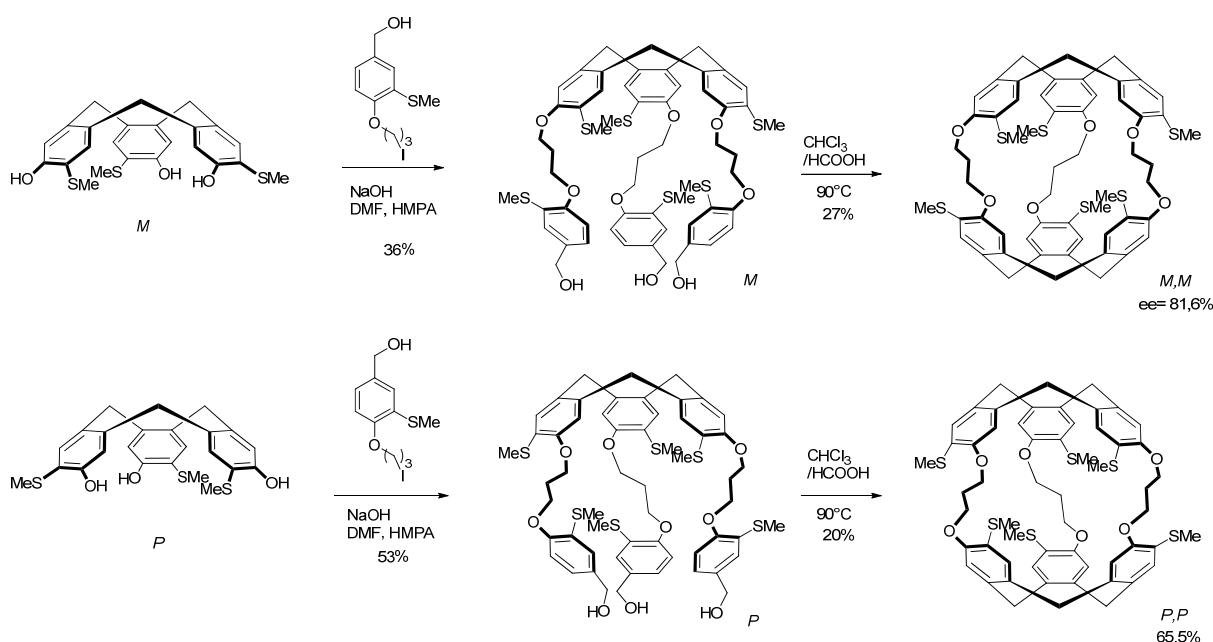


Figure 107 : Synthèse de deux cryptophanes soufrés énatioenrichis à partir des CTB énantiopurs.

En partant de chacun des énantiomères d'un CTB portant des groupements thiométhyle, une synthèse par méthode template permet l'accès aux cryptophanes énatioenrichis recherchés avec des excès énantiomériques de 81,6% et 65,5%. La perte d'information chirale est due à la dernière étape de cyclisation, réalisée à 90°C , au cours de laquelle on observe une racémisation du CTB.

Ce résultat montre que cette voie permet un enrichissement énantiomérique des cryptophanes synthétisés, mais souffre de la racémisation facile des CTB. Elle demande, de plus, d'obtenir les CTB sous forme énantiopure, ce qui n'est pas simple et demande une mise au point préalable. Cette méthode permet néanmoins l'accès à une large gamme de cryptophanes énatioenrichis, portant des substituants différents.

II.1.c. Obtention de cryptophanes énantiopurs par HPLC chirale

Le dédoublement d'un mélange racémique de cryptophane par HPLC sur colonne chirale est une méthode directe qui peut en théorie être utilisée pour tout type de cryptophane, à condition de trouver des conditions appropriées. Dans la pratique, cette méthode est plus souvent utilisée dans les cas où d'autres méthodes ne se sont pas avérées satisfaisantes, car elle ne permet pas facilement l'obtention de larges quantités de matériel énantiopur.

Cette méthode a été mise en œuvre par l'équipe de A. Collet en 1989 pour dédoubler plusieurs CTB et cryptophanes comme le [222](OMe)₆ ou le [333](OMe)₆.¹⁹² Plus récemment, l'équipe de J. Crassous a également réussi à séparer deux énantiomères du cryptophane soufré de la figure 107 en utilisant une HPLC sur colonne chirale (colonne (S,S) Whelk-O1).⁵⁵ En 2007, T. Brotin utilise une colonne chirale identique pour visualiser les deux énantiomères du cryptophane [1,1,1](H)₆, cependant la faible différence de temps de rétention pour les deux énantiomères n'a pas permis une séparation efficace (Figure 108).³⁶ Depuis, d'autres cryptophanes chiraux ont pu être dédoublés efficacement en utilisant d'autres colonnes chirales semi-préparatives.^{193,194}

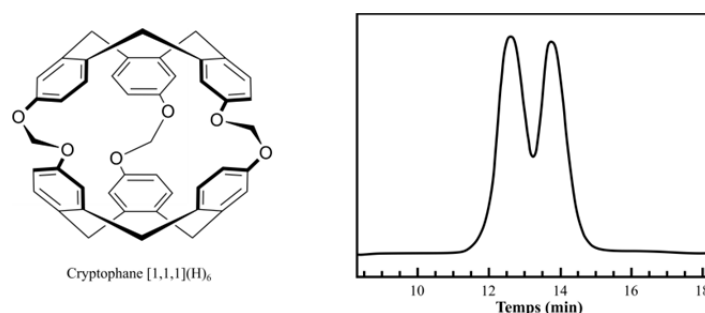


Figure 108 : Chromatogramme du mélange racémique du cryptophane [1,1,1](H)₆ obtenu à 298 K en utilisant une colonne chirale (S,S)-Whelk-O1 avec une éluant 6:4 hexane/THF.

La méthode de séparation par HPLC chirale présente l'avantage de ne pas nécessiter de réaction chimique, cependant, la mise au point de conditions optimales pour la séparation n'est pas aisée, et même lorsque ces conditions sont rassemblées, cette technique ne permet pas de purifier de larges quantités de produit. Elle n'est donc pas la plus adaptée à l'obtention de quantités importantes de cryptophane énantiopur.

II.1.d. Obtention de cryptophanes énantiopurs par formation de diastéréoisomères

Le dédoublement d'un mélange racémique de cryptophane par formation de diastéréoisomères, qui peuvent être séparés par des méthodes de purification classiques (chromatographie, cristallisation...), est une stratégie qui s'est avérée fructueuse et a permis l'obtention d'un grand nombre de cryptophanes énantiopurs.

En 2003, T. Brotin rapporte l'obtention du dérivé mono-OH du cryptophane [222], aussi appelé cryptophanol-A, sous forme énantiopure.¹⁵⁶ Pour arriver à ce résultat, le mélange racémique du cryptophanol A est mis à réagir avec un excès de chlorure d'acyle camphanique sous forme énantiopure. Les deux diastéréoisomères ainsi formés sont ensuite séparés par cristallisation dans le toluène, puis hydrolysés pour mener aux deux énantiomères du cryptophanol A avec des excès énantiomériques supérieurs à 99% (Figure 109).

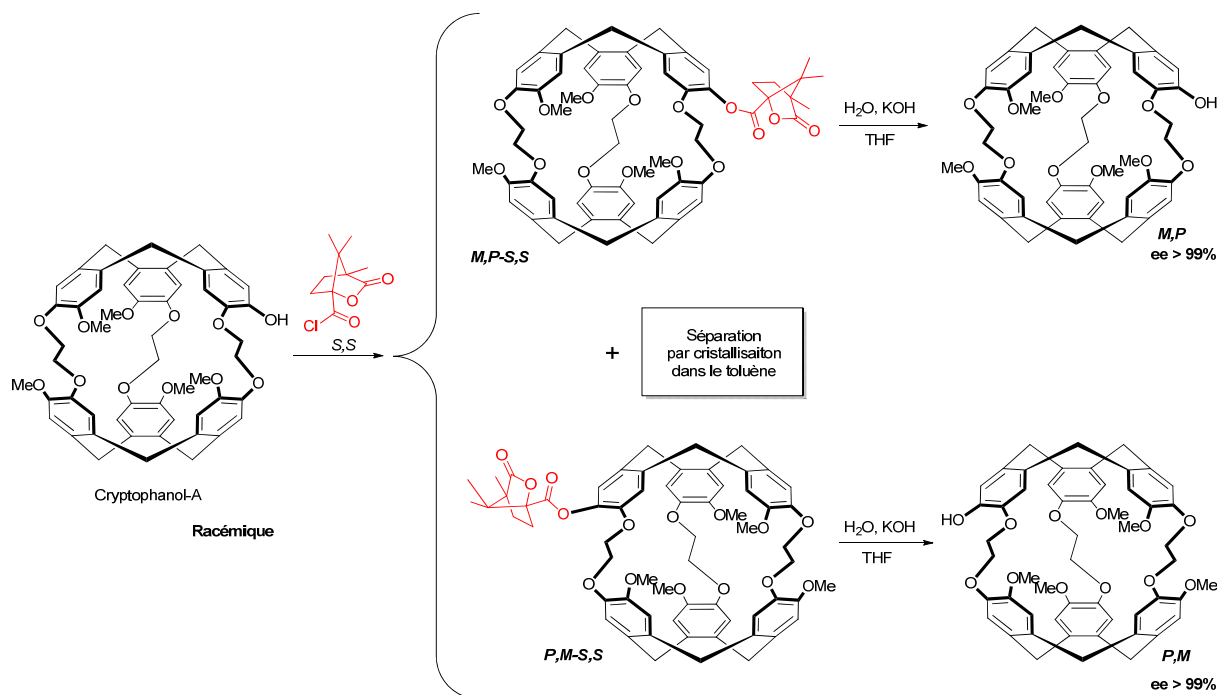


Figure 109 : Séparation du racémique du cryptophanol A par formation de deux diastéréoisomères séparés par cristallisation puis hydrolysés pour donner les deux énantiomères avec des excès énantiomériques dépassant les 99%.

L'obtention du cryptophanol A énantiopur a, par la suite, permis d'accéder à de nombreux nouveaux cryptophanes sous forme énantiopure par modification chimique de ce dernier. Ainsi, l'équipe de T. Brotin rapporte en 2008¹⁵⁸ puis en 2011¹⁹⁵ l'obtention de cryptophanes énantiopurs tous dérivés du cryptophanol A énantiopur par diverses réactions chimiques (Figure 110).

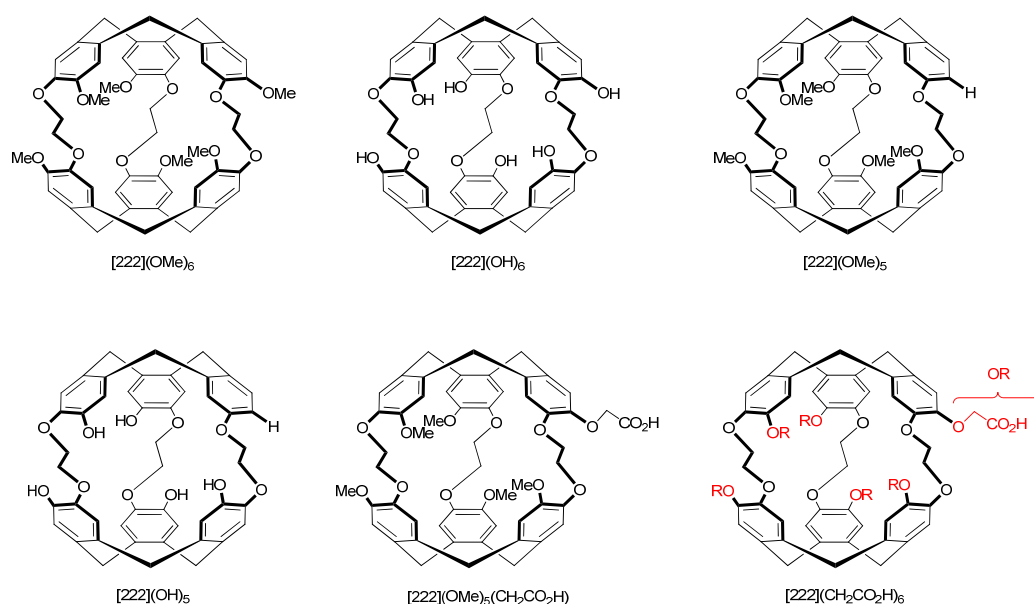


Figure 110 : Exemples de molécules obtenues de manière énantiopure par transformation d'un des énantiomères du cryptophanol A.

Sur la même idée, l'équipe de I. Dmochowski publie, en 2011, le dédoublement d'un mélange racémique d'un cryptophane $[222](OMe)_3(OH)_3$ par formation d'esters de Mosher.¹⁹⁶ Trois réactions d'estérification au niveau des phénols du cryptophane permettent d'obtenir deux diastéréoisomères (*M,P-S* et *P,M-S*). Ces derniers, séparés par la suite par colonne de chromatographie, puis après hydrolyse, mènent chacun à un des énantiomères recherchés (Figure 111).

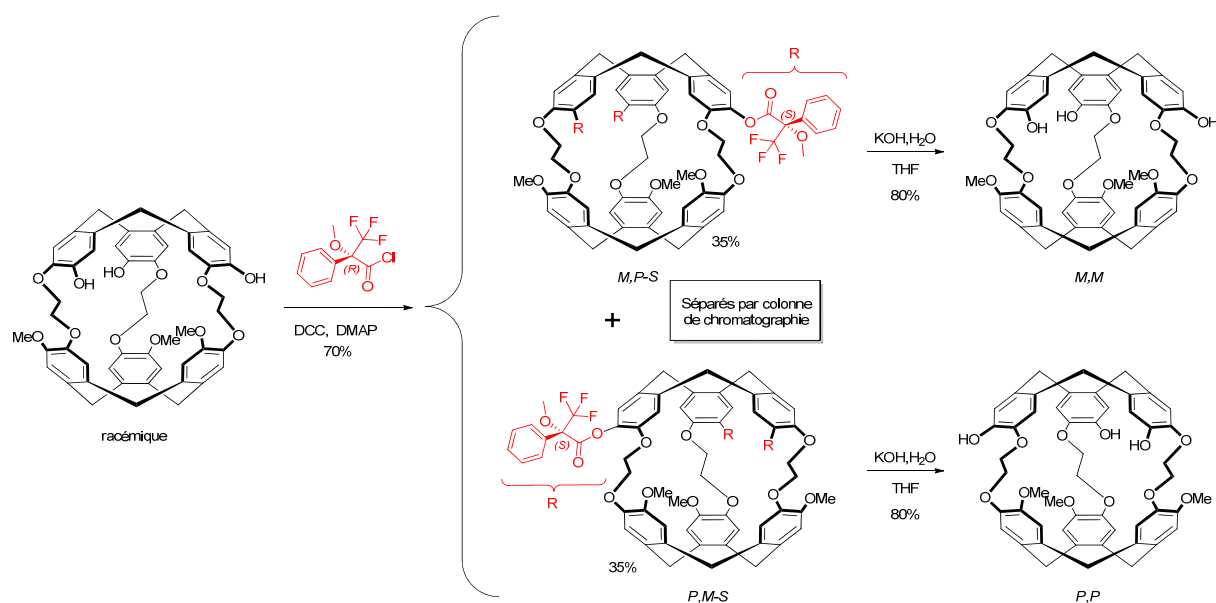


Figure 111 : Séparation du mélange racémique d'un cryptophane $[222](OMe)_3(OH)_3$ par formation de trois esters de Mosher menant à l'obtention de deux diastéréoisomères pouvant être séparés par colonne de chromatographie. Une fois hydrolysé, chaque diastéréoisomère mène à l'obtention d'un des énantiomères.

Ces méthodes de dédoublement par formation de diastéréoisomères permettent de travailler directement sur les cryptophanes déjà formés, ce qui évite les risques de racémisation qui peuvent être rencontrés lors des méthodes de synthèse asymétrique. La séparation des diastéréoisomères n'est pas toujours aisée, mais il est possible de faire varier les agents de dédoublement utilisés pour former un couple de diastéréoisomères pour lequel la séparation, une fois optimisée, peut mener à de larges quantités de cryptophane énantipur.

Les différentes techniques de dédoublement accessibles à la chimie des cryptophanes permettent de faire un choix selon la structure du produit que l'on espère dédoubler. Pour le cryptophane **1** qui nous intéresse ici, l'objectif est de mettre au point des méthodes de dédoublement permettant d'accéder simplement à de larges quantités de matériel énantipur. Cette nécessité de produire de larges quantités s'explique par les applications visées pour ces nouveaux cryptophanes. En effet, les deux champs d'application envisagés pour ces cages moléculaires (greffage sur des particules pour l'encapsulation des cations métalliques, ou construction pour nouvelles biosondes pour le xénon ¹²⁹ hyperpolarisé avec en ligne de mire des études *in vivo*) exigent la production de quantités importantes de cryptophanes énantipurs. Pour ces raisons, le dédoublement du cryptophane **1** par formation de diastéréoisomères a été entrepris. Cependant, un dédoublement par utilisation d'une HPLC chirale a également été mise en œuvre pour permettre un accès rapide au cryptophane énantipur. Les différents essais réalisés et les résultats obtenus sont présentés plus loin.

II.2. Dédoublment du mélange racémique par HPLC chirale

Dans un premier temps, l'obtention du cryptophane **1** sous forme énantipure a été mise en œuvre par HPLC chirale. Cette séparation a été réalisée en collaboration avec Nicolas Vanthuyne à l'Institut des Sciences Moléculaires de Marseille. Afin de gagner en solubilité lors de la séparation, ce n'est pas le composé **1**, peu soluble en solvant organique, qui a été introduit en HPLC mais le précurseur **22** qui ne comporte aucun groupement hydroxyle et présente donc une meilleure solubilité en milieu organique.

Le mélange racémique de **22** a été séparé sur une colonne chirale de type Chiralpak ID. L'éluant utilisé est un mélange EtOH/CH₂Cl₂ 20/80. Dans ces conditions, les deux énantiomères sont bien séparés avec des temps de rétention respectifs de 3,84 et 5,33 minutes. Cette séparation est visible sur le chromatogramme présenté en figure 112. Après séparation, l'excès énantiomérique est évalué comme étant supérieur à 99,5 % pour chacun des énantiomères.

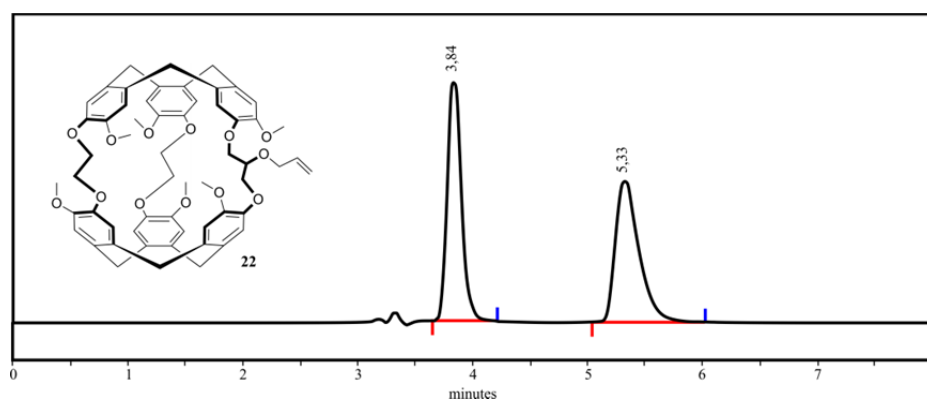


Figure 112 : Chromatogramme du mélange racémique du cryptophane **18** obtenu par HPLC avec une colonne chirale de type Chiralpak ID et un éluant EtOH/CH₂Cl₂ 20/80.

Les deux énantiomères obtenus sont caractérisés par leurs spectres ECD enregistrés dans le chloroforme (Figure 113).

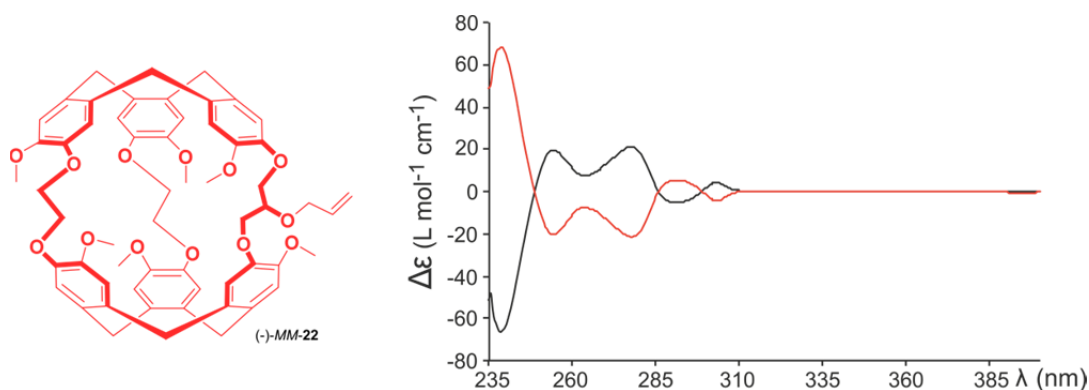


Figure 113 : Spectre ECD des deux énantiomères (+)-*PP*-22 (en noir) et (-)-*MM*-22 (en rouge) dans le chloroforme.

Le spectre ECD montre une bonne symétrie des deux énantiomères, ce qui est en accord avec les excès énantiomériques calculés par HPLC. L'attribution de la configuration absolue de chaque énantiomère peut être faite en examinant la forme du spectre ECD. Si l'on s'intéresse à la courbe rouge, elle présente trois bandes dans la région de la transition ¹L_a, c'est-à-dire entre 235 et 285 nm, et deux bandes dans la région de la transition ¹L_b, c'est-à-dire pour des longueurs d'onde supérieures à 285 nm. L'alternance de signes positif (vers 240 nm) puis négatif (vers 255 nm) pour les deux premières bandes de la transition ¹L_a est caractéristique d'un cryptophane de configuration *MM*. On peut alors attribuer la courbe ECD rouge à l'énantiomère *MM*-22, tandis que la courbe rouge correspond à l'énantiomère *PP*-22. Les mesures de pouvoir rotatoire pour chaque énantiomère permettent quant à elles d'attribuer un signe à chacun d'entre eux. Les deux énantiomères isolés sont donc le (+)-*PP*-1 et le (-)-*MM*-1.

Une fois les deux énantiomères de **22** séparés, ils sont tous deux engagés dans une réaction en présence de diphénylphosphure de lithium pour mener aux deux énantiomères respectifs (+)-**PP-1** et (–)-**MM-1** sans perte d'excès énantiomérique.

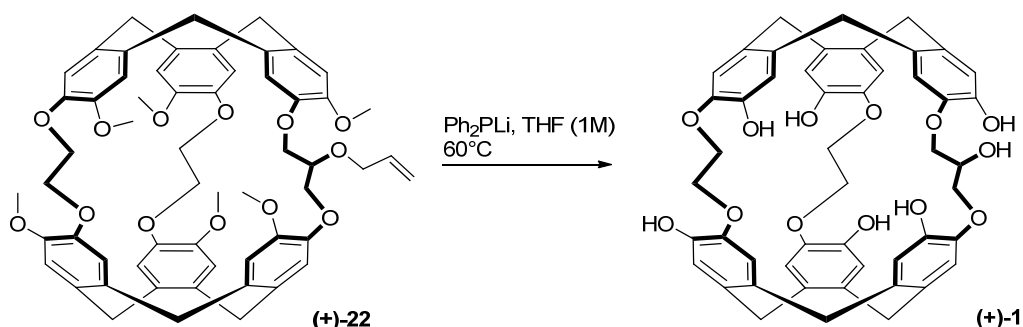


Figure 114 : Réaction de déméthylation réalisée à partir du cryptophane (+)-**22** pour fournir le cryptophane énantiopur (+)-**1**.

Le dédoublement par HPLC chirale du mélange racémique de **22** suivi de la réaction de déméthylation nous a permis d'obtenir rapidement les deux énantiomères (+)-**PP-1** et (–)-**MM-1**, ce qui a rendu possible l'étude de leurs propriétés chiroptiques ; celles-ci seront présentées un peu plus loin dans ce chapitre. Cependant, en vue d'utiliser ces cryptophanes énantiopurs pour des applications nécessitant de larges quantités de produit énantiopur comme le greffage sur des particules ou encore l'utilisation en tant que biosonde, il apparaît intéressant de développer une méthode de dédoublement par voie chimique, nécessitant l'obtention de diastéréoisomères.

II.3. Dédoublement du mélange racémique par voie chimique

Plusieurs questions se posent dans l'objectif d'obtenir le cryptophane **1** sous forme énantiopure. La première est de savoir si l'on fait le dédoublement directement sur le mélange racémique de **1** ou sur l'un des intermédiaires de la synthèse. Par ailleurs, il existe de nombreux agents de dédoublement selon les fonctions chimiques disponibles sur la molécule, il faut donc choisir l'agent à utiliser.

Dans un premier temps, nous nous sommes dirigés vers un dédoublement, non pas sur le cryptophane **1** mais sur le cryptophane **4** (Figure 115) qui présente l'intérêt d'avoir une seule fonction alcool. Parmi les agents de dédoublement courants pour des molécules portant une fonction alcool on peut citer le chlorure de camphanoyl (Figure 115.a), le chlorure d'acyl de Mosher (Figure 115.b) ou encore le chlorure de camphorsulfonyl (Figure 115.c).

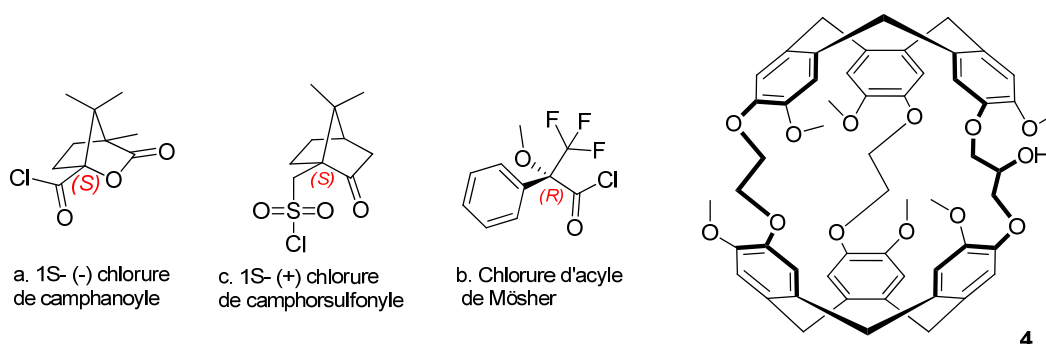


Figure 115 : Exemple d'agents de dédoublement courants pour la séparation des mélanges racémiques des alcools et structure du cryptophane 4.

En s'inspirant des résultats obtenus avec le cryptophanol A, les premiers essais ont été réalisés avec le chlorure de camphanoyle. Une première réaction a ainsi été réalisée entre ce dernier et le cryptophane 4. Le chlorure d'acyle a été placé en excès (4 équivalents) et la réaction a été suivie jusqu'à son terme par CCM et spectrométrie de masse (Figure 116).

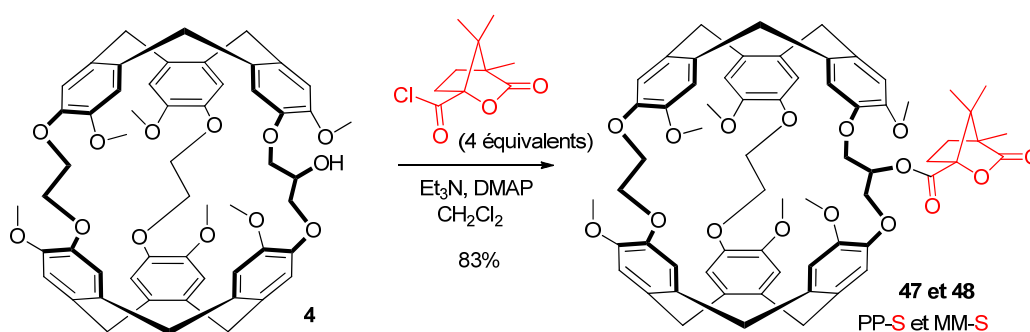


Figure 116 : Premiers essais de dédoublement en fixant une molécule de chlorure de camphanoyle sur le cryptophane 4.

Après traitement, le spectre RMN du proton du mélange isolé montre bien l'introduction d'un groupement camphanique sur la molécule (Figure 117). En effet, en plus des signaux caractéristiques du cryptophane (H aromatiques, CH et CH_2 des chaînes pontantes, H axiaux et équatoriaux, CH_3 des méthoxy), le spectre présente des signaux correspondant au CH_2 et au CH_3 du motif camphanique. La figure 117 montre également un zoom sur la région des signaux des méthoxy qui montre bien l'éclatement des signaux dû à la formation des deux diastéréoisomères 47 et 48.

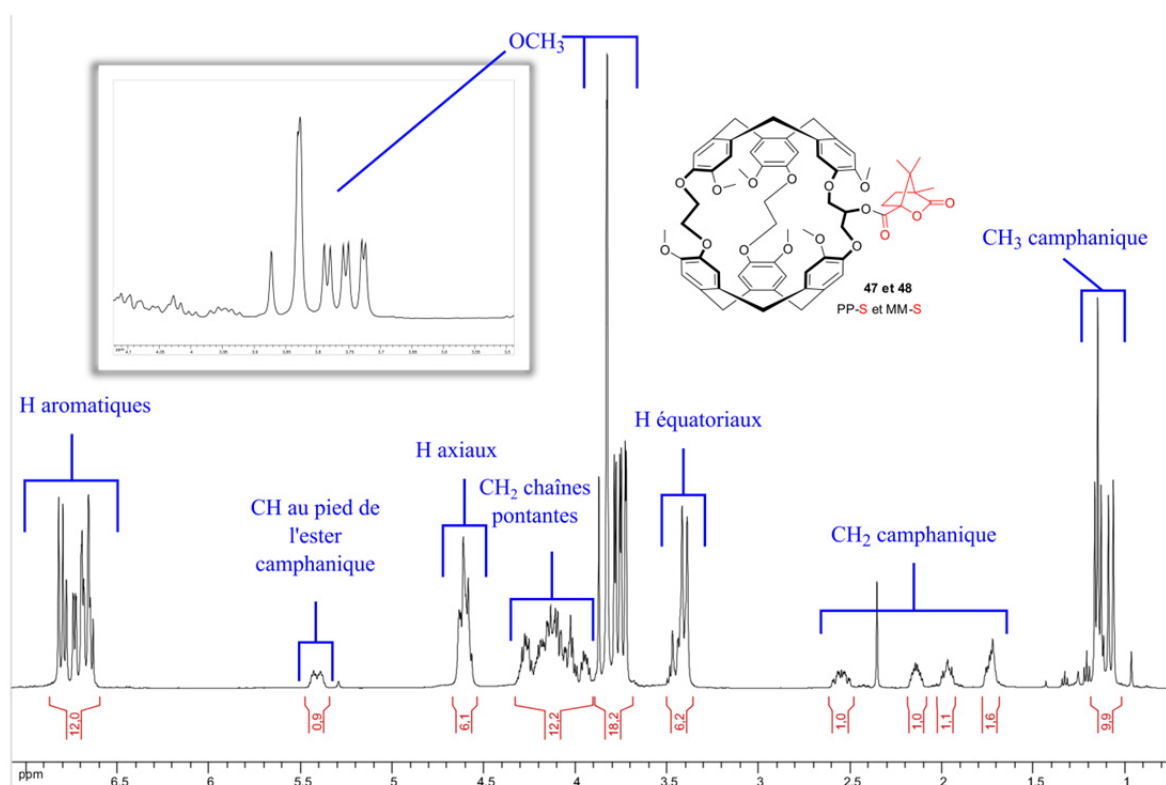


Figure 117 : Spectres RMN ^1H du mélange de diastéréoisomères **47** et **48**. Le zoom des signaux des groupements OMe montre bien le dédoublement des signaux dû à la formation des diastéréoisomères.

Différentes conditions expérimentales ont été testées pour la séparation de ce mélange par chromatographie. Cependant les analyses CCM préalables ne permettaient pas d'obtenir une bonne séparation des deux tâches et plusieurs éluions successives sur une plaque de CCM préparative d'alumine n'ont pu mener qu'à un enrichissement du système sans permettre une séparation complète des deux diastéréoisomères. Des essais de cristallisation dans le toluène ont également été réalisés mais n'ont pas, non plus, permis d'obtenir de séparation satisfaisante.

Devant l'absence de séparation convenable pour ce mélange, nous avons voulu tester la possibilité de former directement les esters camphaniques sur le cryptophane **1**. L'équipe de I. Dmochowski, en 2012, est parvenue à séparer les deux diastéréoisomères obtenus par introduction de 3 esters de Mosher sur le même cryptophane.¹⁹⁶ Aussi, nous avons changé de stratégie et avons décidé de fixer les agents de dédoublement directement sur la molécule **1**. Le principal obstacle à cette réaction est que le cryptophane **1** possède 7 fonctions hydroxyle (6 phénols et 1 alcool secondaire) susceptibles de réagir avec le chlorure de camphanoyle. Le risque est alors que l'encombrement stérique lié à la fixation de plusieurs molécules de l'agent de dédoublement sur le cryptophane ralentisse fortement la réaction, voire l'empêche complètement d'atteindre l'avancement maximal. Cela mènerait à un mélange statistique de produits présentant des degrés différents de substitution ou encore des substitutions sur des positions différentes.

Chapitre 4 : Etude de la complexation des cations métalliques

Afin de se convaincre de la possibilité d'atteindre le degré de substitution maximal pour cette réaction, c'est-à-dire la fixation des sept groupements camphanoyle, une modélisation a été réalisée par le logiciel Chem3D en utilisant une minimisation de type MM2. Cette modélisation, bien que très simple, donne un aperçu de l'encombrement attendu pour la molécule envisagée (Figure 118).

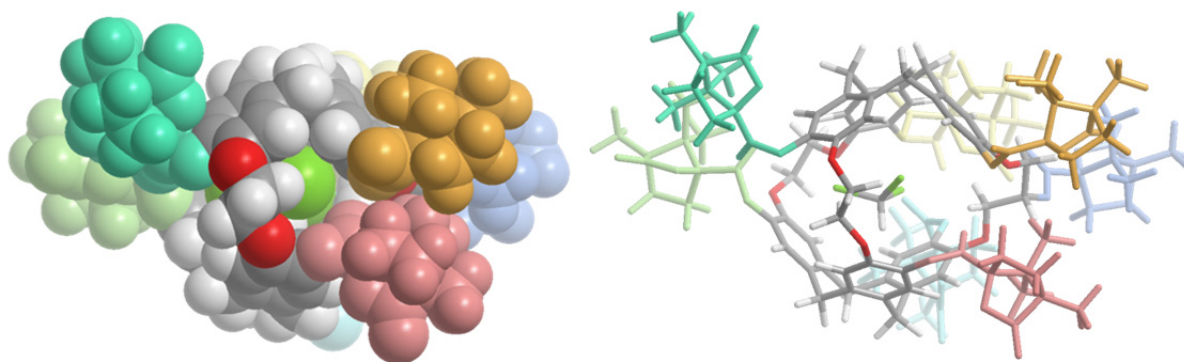


Figure 118 : Structures minimisées avec le logiciel Chem3D. À gauche : une visualisation avec les rayons de van der Waals des atomes. À droite : visualisation plus fine mais ne représentant pas l'espace occupé. Les deux minimisations ont été réalisées avec une molécule de chloroforme au sein de la cavité afin de simuler la présence d'un invité. Les différentes molécules d'agent de dédoublement sont arbitrairement colorées dans un souci de clarté.

La modélisation présentée montre que les différents groupements camphanoyle arrivent à s'orienter de manière à limiter au maximum l'encombrement stérique. Ce premier indice positif nous a encouragés dans cette voie. Le cryptophane **1** a donc été placé en présence d'un excès de chlorure de camphanoyle (4,5 équivalents par fonction, soit 31,5 équivalents au total), de triéthylamine (elle aussi en large excès de 31,5 équivalents) et d'une quantité catalytique de DMAP dans le dichlorométhane au reflux (Figure 119).

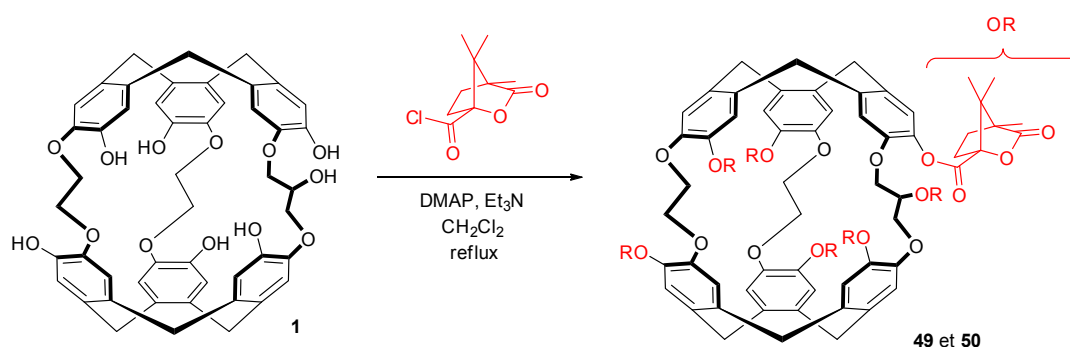


Figure 119 : Formation des deux diastéréoisomères par réactions de sept esters camphaniques.

La réaction a été suivie par CCM et par spectrométrie de masse. Au bout 48 heures deux taches sont visibles par CCM à l'aide d'une révélation UV à 254 nm. Après traitement, la RMN du mélange est complexe, certains signaux sont dédoublés mais il est impossible à ce stade de dire s'il s'agit des deux

diastéréoisomères ou encore de molécules correspondant à des degrés de substitution différents. Une première purification sur colonne de silice permet de récupérer l'excès d'acide camphanique, d'une part, et les deux taches qui révèlent sous UV, d'autre part. Le mélange des deux produits récupérés après la première colonne ont été séparés par plaque CCM préparative de silice (avec un éluant $\text{CHCl}_3/\text{Et}_2\text{O}/\text{EtOH}$: 50/50/0,5) et une analyse par spectrométrie de masse et par RMN a pu montrer qu'il s'agissait bien des deux diastéréoisomères **49** et **50** correspondant à la substitution maximale, c'est-à-dire à l'introduction des sept fonctions camphanoyle. Une superposition de la région 3-7,6 ppm des deux spectres RMN ^1H des deux diastéréoisomères isolés est présentée en figure 120.

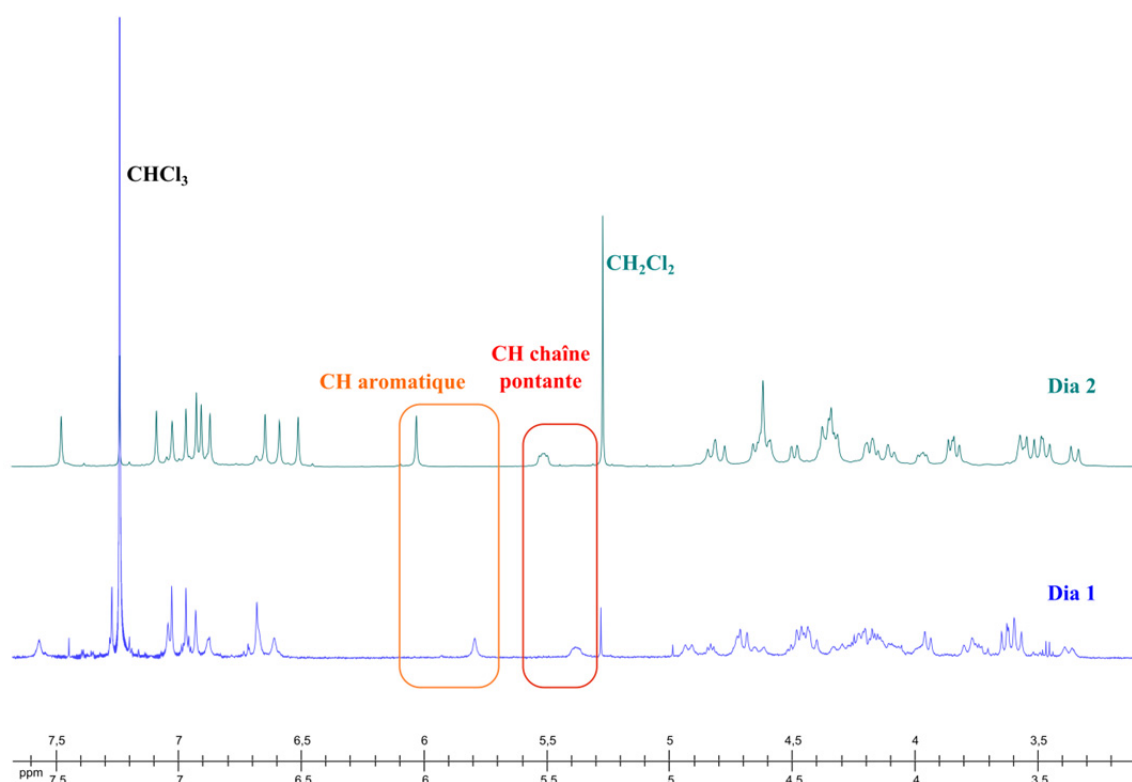


Figure 120 : Superposition des deux spectres RMN ^1H dans le CDCl_3 à 298 K des deux diastéréoisomères **49** et **50** isolés par plaque CCM préparative. Les deux spectres ne montrent que la région [3-7.6] ppm par soucis de clarté ; les signaux des méthyles des groupes camphanoyle étant très grands dans la région [0,5-1,5]. La superposition des deux spectres montre clairement des déplacements chimiques différents entre les deux diastéréoisomères pour l'un des CH aromatique et pour le CH de la chaîne pontante.

Un zoom a été réalisé sur cette région afin de s'affranchir des signaux des groupes camphanoyle qui sont beaucoup plus intenses dans la région 0,5-3 ppm et nuisent à la clarté de l'observation. La comparaison entre les deux spectres RMN des deux diastéréoisomères montre la nette différence de déplacement chimique pour le CH de la chaîne pontante ou encore pour l'un des CH aromatiques. La valeur du déplacement chimique du CH aromatique est particulièrement basse pour un cryptophane (5,79 ppm pour le dia 1 et 6,03 ppm pour le dia 2). L'attribution de ces signaux a nécessité l'emploi de spectres 2D (COSY, HSQC et HMBC) qui ont révélé la présence de signaux caractéristiques des

Chapitre 4 : Etude de la complexation des cations métalliques

cryptophanes très blindés. Le spectre HSQC réalisé pour le diastéréoisomère 2 (c'est-à-dire celui qui présente le rapport frontal le plus faible dans les conditions de séparation) est présenté en figure 121. Il montre clairement la présence de tous les groupes de signaux caractéristiques des cryptophanes et les signaux des groupements camphanoyles. Cependant certains signaux des CH aromatiques sont fortement blindés (jusqu'à 4,63 ppm) et se superposent aux signaux des CH₂ des chaînes pontantes sur le spectre ¹H. Deux des signaux des CH₂ axiaux et équatoriaux sont également particulièrement blindés puisqu'ils ont pour déplacement chimique du proton 2,41 ppm et 0,37 ppm.

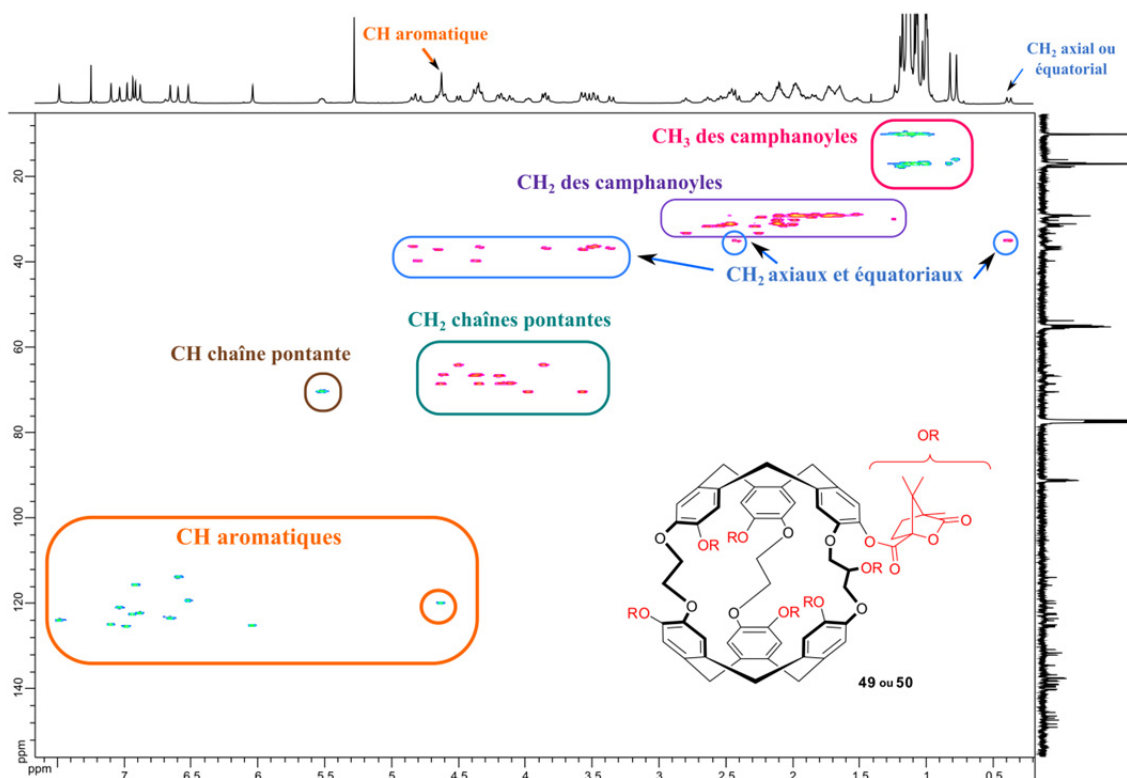


Figure 121 : Spectre HSQC du diastéréoisomère 2 (celui de rapport frontal le plus bas). Le spectre montre la présence de plusieurs groupes de signaux : les CH aromatiques dont le plus blindé se trouve à 4,63 ppm, le CH de la chaîne pontante à trois atomes de carbone, les CH₂ des chaînes pontantes, les CH₂ axiaux et équatoriaux dont deux particulièrement blindés (2,41 ppm et 0,37 ppm), les CH₂ des camphanoyles, et enfin les CH₃ des camphanoyles.

L'obtention de ces signaux particulièrement blindés est caractéristique de l'apparition d'une forme implosée du cryptophane. Ces signaux sont souvent observés de manière minoritaire lorsqu'une partie de la cage est implosée. Ici la forme implosée semble fortement majoritaire, voire seule dans le milieu, mais des analyses HPLC seraient nécessaires pour obtenir des informations quantitatives sur la composition du mélange.

La possibilité de séparer les deux diastéréoisomères par CCM préparative est très encourageante, mais n'est pas compatible avec la recherche d'une production de larges quantités de matériel énantiopur. Des conditions de purification par colonne de chromatographie ont donc été recherchées en utilisant

cette fois des colonnes prépackées puriflash avec une silice plus fine, dans l'espoir d'obtenir de meilleures séparations. Ces nouvelles conditions de purification ont en effet permis d'obtenir de meilleures séparations, mais seul le diastéréoisomère présentant le plus grand rapport frontal est récupéré sous forme de fractions pures. Le second a été obtenu sous forme de mélange enrichi lors de chaque essai. Le travail d'optimisation doit donc être poursuivi pour parvenir à une séparation à plus grande échelle.

Une fois les diastéréoisomères séparés, l'hydrolyse des fonctions ester a été testée sur 120 mg du diastéréoisomère 2. Les conditions de clivage ont été adaptées de la littérature dans laquelle le groupe de Q.-Y. Zheng rapporte le dédoublement de CTB par l'utilisation d'esters camphaniques en 2012.¹⁹⁷ Le diastéréoisomère à cliver a donc été traité par 24 équivalents de LiAlH_4 dans le THF à température ambiante pendant 24 heures. Le mélange réactionnel a ensuite été traité et purifié par colonne de chromatographie pour mener à l'obtention d'un produit dont les analyses préliminaires par RMN ^1H semblent montrer que l'hydrolyse n'est que partielle dans ces conditions et qu'un groupe camphanoyl est toujours présent sur la molécule.

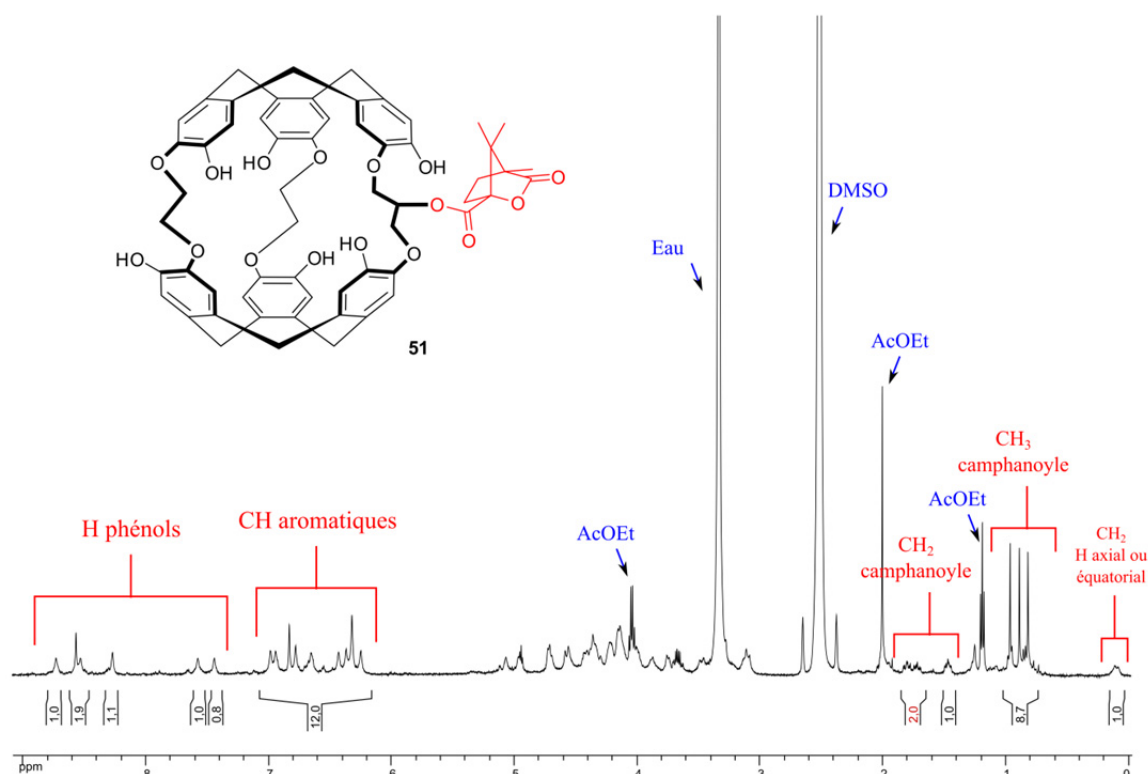


Figure 122 : Spectre RMN ^1H du produit isolé après la réaction d'hydrolyse. Le spectre est réalisé dans le DMSO-d_6 à 298 K. Le spectre montre la présence de 6 fonctions phénol, des CH aromatiques et des signaux correspondant à la présence d'un groupement camphanoyl. La présence d'un doublet pour 0,11 ppm signale que la molécule isolée est présente majoritairement sous forme implosée.

Chapitre 4 : Etude de la complexation des cations métalliques

Le spectre RMN ^1H du produit d'hydrolyse est enregistré dans le DMSO-d_6 et montre la présence de six fonctions phénol (entre 7,2 et 9 ppm) et des signaux d'un groupe camphanoyl (les CH_2 entre 1,3 et 1,8 ppm et les CH_3 entre 0,6 et 1 ppm). Le doublet observé pour 0,11 ppm indique que le cryptophane est présent majoritairement sous forme implosée. Ce spectre montre ainsi que les conditions d'hydrolyse employées n'ont pas mené au cryptophane **1** mais à un produit d'hydrolyse partielle **51** (Figure 123).

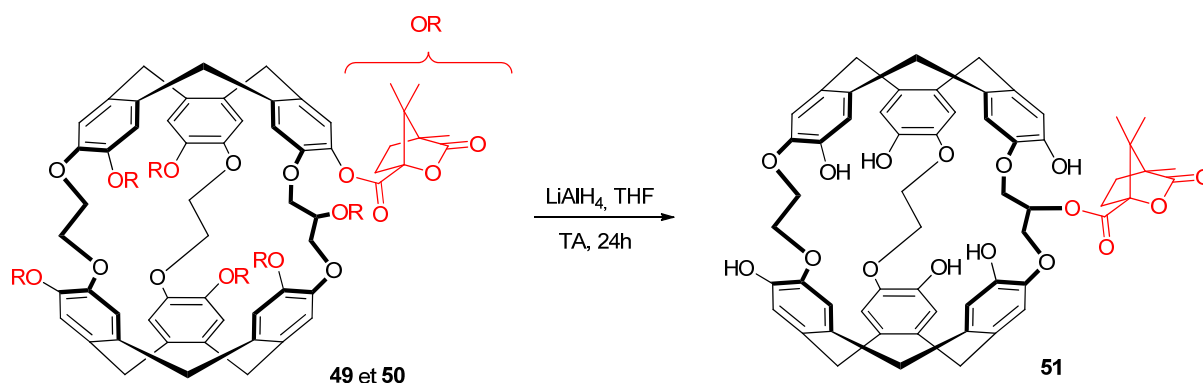


Figure 123 : Réaction d'hydrolyse à partir du diastéréoisomère **2** (**49** ou **50**) en présence de LiAlH_4 . Le produit **51** obtenu est issu de l'hydrolyse partielle puisqu'il reste un groupe camphanoyl sur la position latérale.

Au bilan, les essais préliminaires réalisés pour dédoubler le cryptophane **1** ont permis d'obtenir des résultats intéressants, mais demandent encore un travail d'optimisation pour parvenir à obtenir le cryptophane **1** sous forme énantio pure. Plusieurs pistes sont à explorer dans cette démarche. Tout d'abord, la réaction d'hydrolyse peut être tentée en modifiant les conditions expérimentales, en utilisant par exemple LiOH ou KOH . Une autre stratégie peut également être de changer l'agent de dédoublement utilisé en prenant par exemple l'acide de Mosher ou l'acide camphorsulfonique et en espérant avoir des séparations plus aisées ainsi. La nouvelle stratégie mise en place devra également veiller à utiliser des conditions de chauffage plus douces pour l'introduction des agents de dédoublement. En effet, les 3 jours de chauffage nécessaires à la formation des sept esters camphaniques semblent avoir engendré une implosion de la cage, ce qui est problématique pour les propriétés d'encapsulation. Le dédoublement par utilisation d'une HPLC chirale permet quant à lui d'obtenir des quantités suffisantes de cryptophane **1** non implosé pour pouvoir en étudier les propriétés d'encapsulation des cations métalliques en s'intéressant aux propriétés chiroptiques de la molécule hôte. Les différentes études menées sont présentées dans la suite de ce chapitre.

III. Étude de complexation des cations par dichroïsme circulaire

Les propriétés de complexation du cryptophane énantio pur **1** ont été étudiées par dichroïsme circulaire. Les spectres ECD ont été enregistrés pour des quantités croissantes des cations césium ou thallium variant entre 0 et 2 équivalents en cryptophane. De plus, de manière comparable aux études

menées pour les cryptophanes [222](OH)₆ et [223](OH)₆,^{150,152} l'influence de la composition de la solution aqueuse utilisée pour solubiliser le cryptophane a été étudiée.

III.1. Spectres ECD du cryptophane (–)-MM-1 lors de l'ajout de césium

Les propriétés chiroptiques du cryptophane (–)-MM-1 ont été étudiées en solubilisant cette molécule dans quatre solutions aqueuses différentes. La première est une solution aqueuse de LiOH à une concentration de 0,1 mol.L⁻¹, la deuxième est une solution aqueuse de KOH à une concentration de 0,1 mol.L⁻¹, la troisième est une solution aqueuse de LiOH à une concentration de 1 mol.L⁻¹ et, enfin, la quatrième est une solution aqueuse de LiOH à une concentration de 0,1 mol.L⁻¹ saturée en chloroforme. Les spectres ECD ont été enregistrés à 298 K pour chacune de ces solutions, en réalisant des ajouts successifs de CsOH de manière à faire varier régulièrement le nombre d'équivalents de cation césium de 0 à 1 par rapport à la quantité de cryptophane (figure 124).

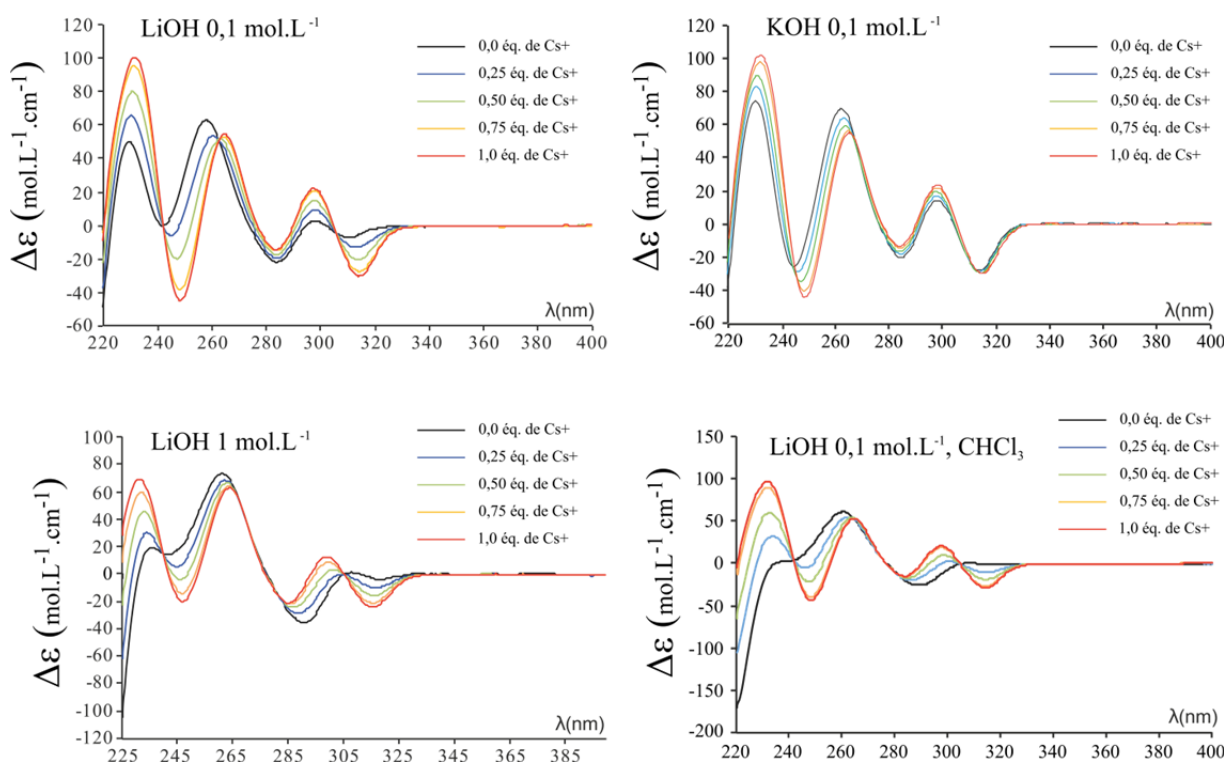


Figure 124 : Spectres ECD du cryptophane (–)-MM-1 (concentrations de $1,3 \times 10^{-5}$ mol.L⁻¹ à $1,5 \times 10^{-5}$ mol.L⁻¹) enregistrés pour des ajouts successifs d'hydroxyde de césium. Les spectres sont enregistrés pour plusieurs solutions basiques : LiOH à 0,1 mol.L⁻¹, KOH à 0,1 mol.L⁻¹, LiOH à 1 mol.L⁻¹ et LiOH à 0,1 mol.L⁻¹ saturée en chloroforme.

Chacune des expériences présentées montre que l'ajout d'hydroxyde de césium à la solution provoque des changements importants des spectres ECD du cryptophane. Un point commun à toutes les conditions étudiées est que l'ajout d'hydroxyde de césium provoque la formation de points isobestiques qui mettent en évidence la formation d'une nouvelle espèce en équilibre avec la première. Ici, ces points isobestiques illustrent l'apparition du complexe Cs⁺@cryptophane. L'ensemble des

Chapitre 4 : Etude de la complexation des cations métalliques

spectres ECD montre cependant que les propriétés chiroptiques du cryptophane (-)-**MM-1** évoluent différemment selon la solution aqueuse utilisée.

Pour les solutions de LiOH ou KOH à des concentrations de 0,1 mol.L⁻¹, en l'absence de césium, les valeurs de $\Delta\epsilon$ observées pour des longueurs d'onde autour de 220 nm sont relativement faibles (-40 mol.L⁻¹.cm⁻¹) par rapport à celles obtenues dans les mêmes conditions pour les solutions de LiOH à une concentration de 1 mol.L⁻¹ et la solution de LiOH à une concentration de 0,1 mol.L⁻¹ saturée en chloroforme (-100 et -150 mol.L⁻¹.cm⁻¹). Ces résultats sont très similaires à ceux obtenus pour le cryptophane [223](OH)₆. Les signaux observés pour les longueurs d'onde autour de 220 nm correspondent aux bandes ECD issues des transitions ¹B₆. L'obtention de valeurs importantes dans cette région indique la présence de conformations de type *trans* dans les chaînes pontantes. Le chloroforme est un substrat volumineux ($V_{vdw} = 72 \text{ \AA}^3$) qui force la cage à adopter ces conformations *trans*, tandis qu'en présence d'une forte concentration de LiOH, on peut émettre l'hypothèse que les cations lithium interagissent fortement avec les atomes d'oxygène de la cage et la force à adopter cette géométrie. À l'inverse, dans une solution de LiOH à une concentration de 0,1 mol.L⁻¹, et en l'absence de chloroforme, l'effet hydrophobe l'emporte, et la cage adopte des conformations *gauches* pour les chaînes pontantes afin de réduire la taille de sa cavité.

L'introduction du césium provoque des modifications au niveau des spectres ECD qui traduisent les changements conformationnels que la cage doit effectuer pour maximiser les interactions avec le cation. Ainsi pour le cryptophane solubilisé dans les solutions de LiOH à une concentration de 1 mol.L⁻¹ et de LiOH à une concentration de 0,1 mol.L⁻¹ saturée en chloroforme, les valeurs de $\Delta\epsilon$ pour des longueurs d'onde de 220 nm se réduisent fortement lors de l'ajout de césium. Ces variations traduisent les changements conformationnels des chaînes pontantes pour adopter des conformations *gauches* qui engendrent une cavité plus faible permettant de meilleures interactions avec le cation Cs⁺. Les changements observés lors de l'ajout du césium sont beaucoup plus modérés dans le cas d'une solution de LiOH à une concentration de 0,1 mol.L⁻¹ et sont même très peu visibles pour une solution de KOH à la concentration de 0,1 mol.L⁻¹. Cette différence de comportement montre que, dans ces deux dernières solutions, le cryptophane **1** adopte déjà, en l'absence de cation métallique, une cavité proche de celle qu'il prend lors de l'ajout du Cs⁺. Dans le cas de la solution de KOH, les très faibles modifications s'expliquent par le fait que, tout comme le cryptophane [223](OH)₆, la cage **1** complexe en partie le cation potassium K⁺. L'ajout de césium provoque un échange de cation au sein de la cavité, mais cela se fait sans changement majeur de géométrie du cryptophane et n'engendre ainsi pas de grande variation du signal ECD.

Toutes ces observations sont sensiblement identiques à celles que l'on peut faire pour le cryptophane [223](OH)₆. La fonction hydroxyle latérale de la molécule **1** ne semble donc pas avoir d'influence sur l'évolution des propriétés chiroptiques du cryptophane lors de la complexation du césium. On retrouve

en particulier que des concentrations très faibles en cation césium suffisent à engendrer de grandes variations du signal ECD du cryptophane **1** ce qui en fait un bon candidat pour des applications de détection de ces cations métalliques. Afin de vérifier que la même chose était vraie pour le cation thallium, les mêmes études ont été menées en changeant le cation. Les résultats obtenus sont présentés par la suite.

III.2. Spectres ECD du cryptophane (–)-**MM-1** lors de l'ajout de thallium

Afin d'étudier le processus de complexation du cation thallium (I) dans le cryptophane **1**, une série d'expériences identiques à celle réalisée pour le cation césium ont été mises en œuvre. Les spectres obtenus sont présentés en figure 125

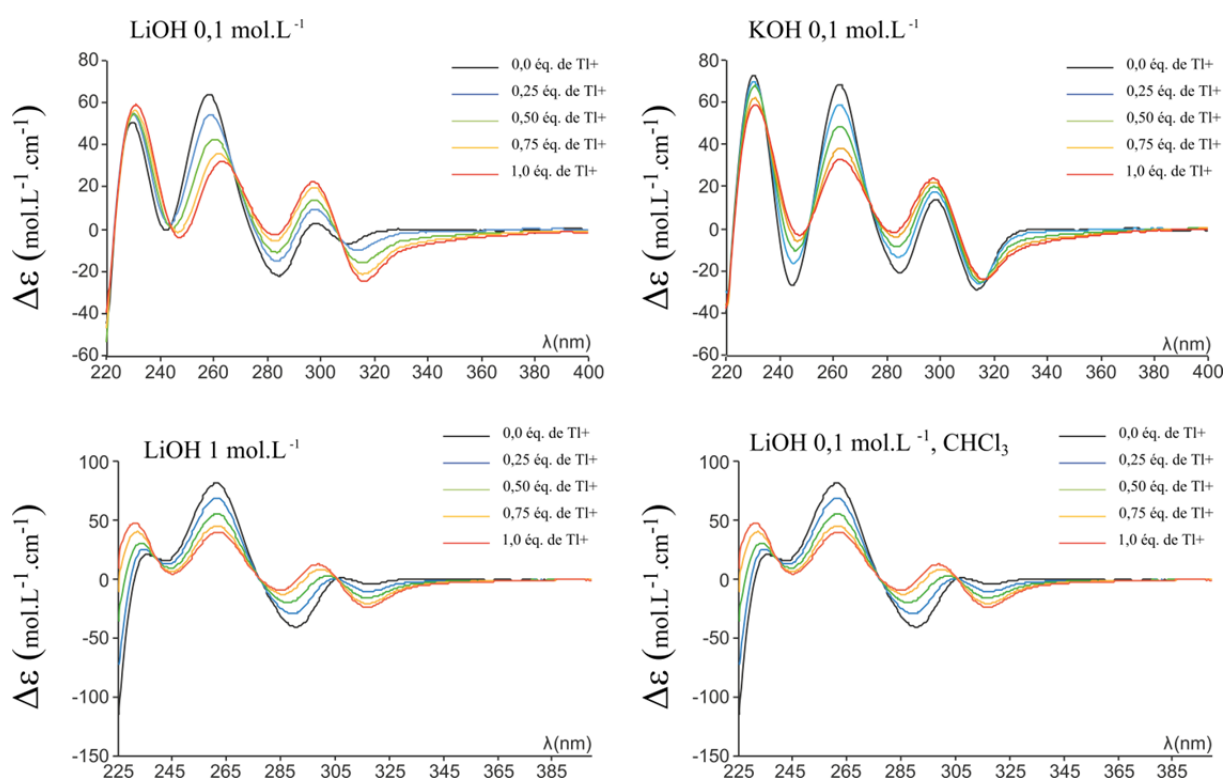


Figure 125 : Spectres ECD du cryptophane (–)-**MM-1** (concentrations de $1,3 \times 10^{-5}$ mol.L⁻¹ à $1,5 \times 10^{-5}$ mol.L⁻¹) pour les ajouts successifs d'acétate de thallium. Les spectres sont enregistrés pour plusieurs solutions basiques, LiOH (0,1 mol.L⁻¹), KOH (0,1 mol.L⁻¹), LiOH (1 mol.L⁻¹), LiOH (0,1 mol.L⁻¹) saturée en chloroforme.

De manière très similaire à ce qui a été observé dans le cas Cs⁺, les spectres de la figure 125 montrent que l'ajout d'acétate de thallium à la solution de LiOH à la concentration de 1 mol.L⁻¹ ou à la solution de LiOH à la concentration de 0,1 mol.L⁻¹ saturée en chloroforme provoque de grandes variations du signal ECD pour des longueurs d'onde autour de 220 nm. Il s'agit là encore de la mise en évidence de changements conformationnels importants, les chaînes pontantes passant de conformations *trans* à des conformations *gauches* pour optimiser les interactions avec le thallium. Ces variations ne sont pas visibles dans les spectres enregistrés pour la solution de LiOH à la concentration de 0,1 mol.L⁻¹ ou

Chapitre 4 : Etude de la complexation des cations métalliques

pour la solution de KOH à la concentration de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Pour ces deux solutions, les variations enregistrées sont plus faibles, les changements conformationnels dus à l'introduction du cation thallium étant moins importants dans ces conditions. Il est intéressant de noter que, quelle que soit la solution utilisée, l'ajout de césium ne semblait pas provoquer de variations importantes de la bande 1L_b pour des longueurs d'onde supérieures à 340 nm, alors que l'ajout de thallium induit des modifications notables des différents signaux ECD dans cette région. Il semble en effet que l'ajout de thallium provoque l'apparition d'un épaulement de la bande 1L_b pour des longueurs d'onde supérieures à 340 nm. Cette observation n'est pas facilement interprétable avec les seuls spectres ECD. Les enthalpogrammes qui seront présentés par la suite mènent, entre autre, à la conclusion que les interactions entre le cryptophane et le cation thallium sont plus fortes qu'avec le cation césium. On peut alors supposer que les fortes interactions entre la cage et le cation thallium sont responsables de l'apparition d'un tel signal en ECD, cependant des études plus poussées sont nécessaires pour pouvoir conclure sur le type d'interaction à la source de ces observations. Des calculs DFT sont actuellement en cours afin d'étudier en détail la nature des interactions qui s'établissent entre la cavité et ces deux cations. Des premiers résultats préliminaires semblent montrer que le complexe formé entre le cryptophane et le cation thallium est en partie stabilisé par un transfert de charge qui n'existe pas dans le complexe formé avec le cation césium. On peut alors émettre l'hypothèse que ce transfert de charge est responsable de l'apparition d'un signal non nul en ECD pour des longueurs d'onde supérieures à 340 nm.

Ces observations sont de nouveau en accord avec les résultats obtenus avec le cryptophane $[223](\text{OH})_6$ et confirment donc un maintien des propriétés chiroptiques en présence de l'alcool latéral quel que soit le cation étudié. Une étude quantitative est maintenant nécessaire pour évaluer l'influence de cette fonction alcool sur les paramètres thermodynamiques de la complexation des cations au sein du cryptophane. Des expériences de titrages calorimétriques ont donc été mises en œuvre afin de déterminer les constantes d'association ou encore la stœchiométrie des complexes formés. Les résultats obtenus sont présentés plus bas.

IV. Obtention des données thermodynamiques par titrage calorimétrique

Afin de quantifier les interactions entre le cryptophane **1** et les différents cations, des dosages calorimétriques (ITC) ont été réalisés en variant les conditions expérimentales (nature de la solution basique, concentration). L'ITC ne nécessitant pas l'utilisation de cryptophane énantiopur, toutes les mesures ont été réalisées avec un mélange racémique du cryptophane **1**. La figure 126 montre trois exemples d'enthalpogrammes obtenus pour des titrages différents du cryptophane **1** réalisés à 298 K.

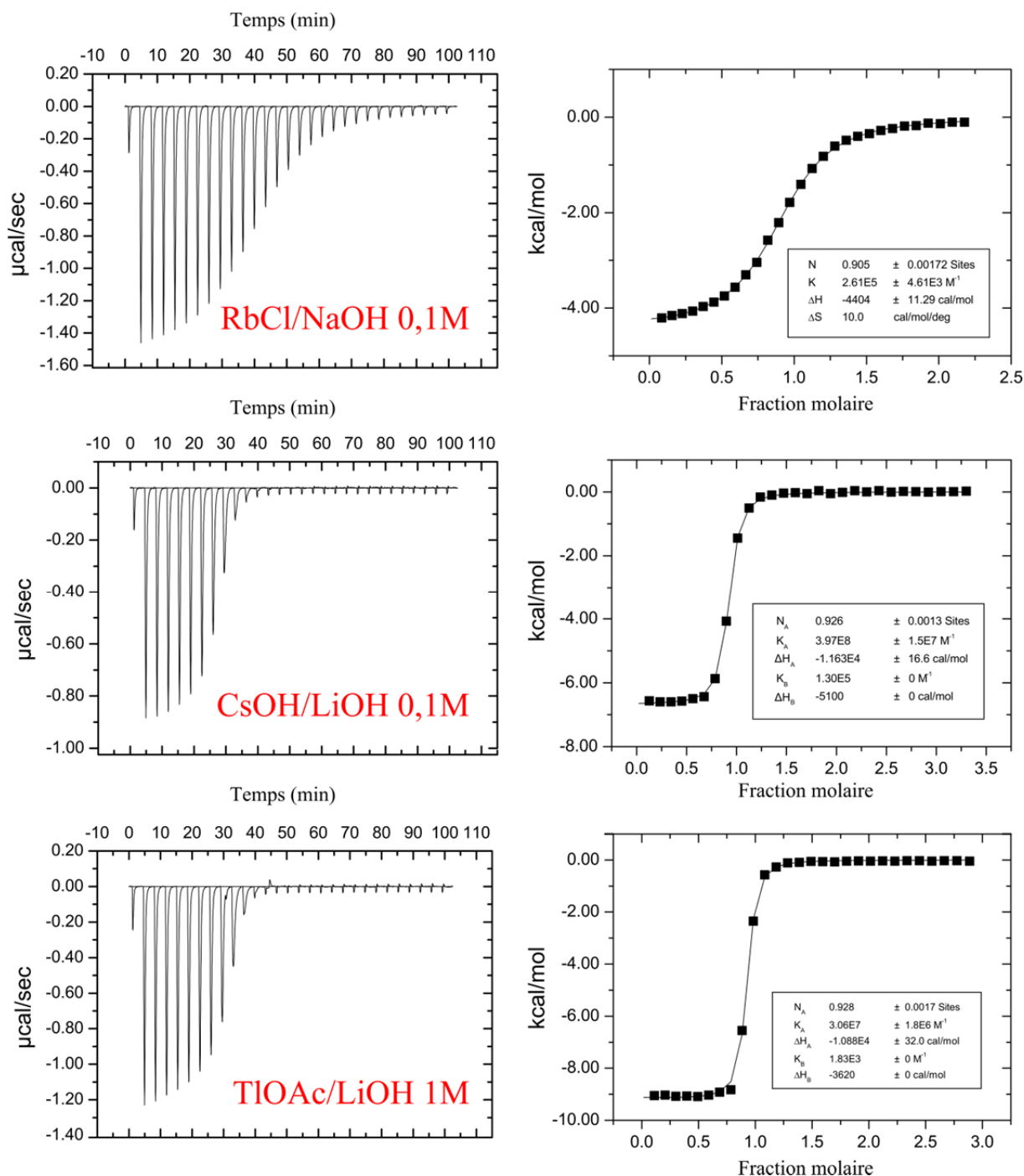


Figure 126 : Enthalpogramme correspondant aux titrages calorimétriques du cryptophane **1**. En haut : solution de **1** à $0,1 \text{ nmol.L}^{-1}$ dans NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ titrée par ajouts d'une solution de RbCl à $1,0 \text{ nmol.L}^{-1}$ dans NaOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Au milieu : solution de **1** à $0,03 \text{ nmol.L}^{-1}$ dans LiOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ titrée par ajouts d'une solution de CsOH à $0,404 \text{ nmol.L}^{-1}$ et RbCl à $0,302 \text{ mol.L}^{-1}$ dans LiOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. En bas : solution de **1** à $0,03 \text{ nmol.L}^{-1}$ dans LiOH 1 mol.L^{-1} titrée par ajouts d'une solution de TIOAc à $0,395 \text{ nmol.L}^{-1}$ et RbCl à $0,499 \text{ mol.L}^{-1}$ dans LiOH 1 mol.L^{-1} .

Le premier enthalpogramme est obtenu dans une solution de NaOH à la concentration de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ par ajouts successifs d'une solution de RbCl. Le second enthalpogramme est obtenu pour le dosage du cryptophane **1** en solution dans le LiOH à la concentration de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ par ajouts successifs d'une solution de CsOH. Ce dernier titrage a été réalisé en présence de Rb^+ qui joue le rôle de compétiteur et

Chapitre 4 : Etude de la complexation des cations métalliques

permet d'obtenir des courbes qu'il est possible de modéliser. Il faut ensuite tenir compte des valeurs obtenues pour les titrages du rubidium dans les mêmes conditions pour remonter aux valeurs propres à la complexation du cation Cs^+ . Le dernier enthalpogramme en figure 126 décrit également un titrage en présence du compétiteur Rb^+ . Il s'agit du titrage du cryptophane en solution dans le LiOH à la concentration de 1 mol.L^{-1} par ajouts successifs d'une solution de TIOAc. L'obtention des enthalpogrammes permet, après modélisation de la courbe, d'extraire un ensemble de paramètres concernant le complexe et les données thermodynamiques relatives à sa formation. La première information remarquable que l'on peut retirer de l'ensemble des titrages calorimétriques effectués est que, quelles que soient les conditions étudiées, tous les complexes formés ont une stœchiométrie 1 : 1. Cette observation était attendue puisque la cavité du cryptophane **1** est similaire au cryptophane [223](OH)₆ pour lequel une telle stœchiométrie était également obtenue.

La modélisation des enthalpogrammes permet également d'obtenir les valeurs des enthalpies et entropies de formation ΔH et ΔS , à partir desquelles il est possible d'obtenir les enthalpies libres et les constantes d'association. Le tableau 5 regroupe toutes les informations obtenues à partir des enthalpogrammes enregistrés pour les différents titrages du cryptophane **1** effectué en faisant varier le cation titrant et la solution aqueuse basique utilisée.

Cation	Solution	$\Delta_r H$ (kcal.mol ⁻¹)	$\Delta_r S$ (cal.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	$\Delta_r G$ (kcal.mol ⁻¹)	K (M ⁻¹)	Mode de détection
Rb⁺	LiOH 0,1M	-5,1	6,3	-7,0	$1,30.10^5$	Direct
	LiOH 1M	-3,6	2,8	-4,5	$1,83.10^3$	Direct
	NaOH 0,1 M	-4,4	10,0	-7,4	$2,61.10^5$	Direct
	KOH 0,1M	-	-	-	-	Pas de complexation
Cs⁺	LiOH 0,1M	-11,8	-0,07	-11,7	$3,97.10^8$	Compétition
	LiOH 1M	-11,5	-8,2	-9,1	$4,48.10^6$	Direct
	NaOH 0,1 M	-11,0	3,6	-12,1	$7,58.10^8$	Compétition
	KOH 0,1M	-6,6	9,8	-9,6	$1,02.10^7$	Direct
Tl⁺	LiOH 0,1M	-10,4	10,9	-13,7	$1,00.10^{10}$	Compétition
	LiOH 1M	-10,9	-2,2	-10,2	$3,06.10^7$	Compétition
	NaOH 0,1 M	-10,2	11,8	-13,7	$1,08.10^{10}$	Compétition
	KOH 0,1M	-5,9	15,6	-10,5	$5,13.10^7$	Direct

Tableau 5 : Données thermodynamiques de la complexation du Rb^+ , du Cs^+ et du Tl^+ dans la cage **1**, obtenues à partir des titrages calorimétriques réalisés à 298K.

La première tendance qui se dégage de ce tableau est que, quelle que soit la solution considérée, les valeurs des constantes d'association K sont plus élevées pour le cation thallium que pour le cation césium avec un à deux ordres de grandeur de différence. Le cation rubidium engendre, quant à lui, des constantes d'association beaucoup plus faibles, 4 à 5 ordres de grandeur de différence avec le thallium,

et n'est pas complexé dans une solution de KOH à la concentration de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. L'absence de complexation du rubidium dans une solution de KOH s'explique par le fait que le cation potassium peut également être encapsulé dans la cavité et qu'il représente un compétiteur trop fort pour le rubidium. Si l'on observe les différentes solutions utilisées pour un même cation, il apparaît que les meilleures constantes d'association sont obtenues pour les solutions de LiOH et NaOH aux concentrations de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, tandis qu'une concentration plus forte en LiOH (1 mol.L^{-1}) ou encore une solution de KOH à la concentration de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ engendrent une diminution de la constante d'association. Dans le cas de la solution de KOH, cette diminution est due à une compétition avec la complexation du cation potassium. Pour une forte concentration en LiOH (1 mol.L^{-1}), les spectres obtenus en ECD semblent indiquer que ce type de solution force le cryptophane à adopter des conformations *trans* au niveau des chaînes pontantes. Ces mêmes spectres ECD montrent que l'ajout de césium provoque un changement conformationnel pour que la cavité s'adapte au cation encapsulé. En d'autres termes, la présence d'une forte concentration en LiOH diminue la pré-organisation de la molécule hôte, ce qui se traduit par des coûts entropiques et enthalpiques accrus lors de la complexation. Ce phénomène explique l'obtention de valeurs de constantes d'association plus faibles pour ces conditions.

Les données thermodynamiques extraites des titrages calorimétriques effectués montrent clairement que le cryptophane **1** est tout à fait adapté à la complexation des cations métalliques Cs^+ et Tl^+ en solution aqueuse basique. L'étude des différentes solutions aqueuses basiques utilisées montrent que les meilleures constantes d'association peuvent atteindre 10^8 dans le cas du césium et 10^{10} dans le cas du thallium. De telles valeurs de constantes sont remarquables si l'on considère que ces expériences sont réalisées dans l'eau. Cela permet d'envisager des applications pour la détection de très faibles concentrations ou encore des applications d'extraction comme celle présentée en introduction de ce chapitre. Des preuves supplémentaires de la formation des complexes étudiés et des informations structurales complémentaires peuvent être apportées par une étude RMN de l'encapsulation des cations dans le cryptophane **1**. Des études RMN ont donc été menées sur ce système et sont présentées dans la partie suivante.

V. Mise en évidence de la complexation par spectroscopie RMN

Tout comme nous l'avons vu dans le cas de la complexation du xénon, la RMN est une technique puissante pour détecter l'encapsulation de substrats au sein des cryptophanes. L'environnement chimique de l'espèce étudiée est fortement modifié dans la cavité de la cage moléculaire. Le substrat pénétrant dans les cônes de blindage des cycles aromatiques, son signal apparaît comme fortement blindé. Il est possible d'utiliser la RMN pour étudier la complexation des cations métalliques Cs^+ et Tl^+ dans les cryptophanes en utilisant des sondes adaptées à la détection des noyaux actifs en RMN

pour ces espèces. Les sondes utilisées et les résultats obtenus pour chacun de ces cations sont détaillés ci-après.

V.1. RMN du césium

Les expériences de RMN du ^{133}Cs ont été menées en solubilisant le mélange racémique du cryptophane **1** dans une solution de NaOD dans D_2O en présence d'une petite quantité de CsOH, H_2O . Le spectre RMN obtenu est présenté ci-dessous.

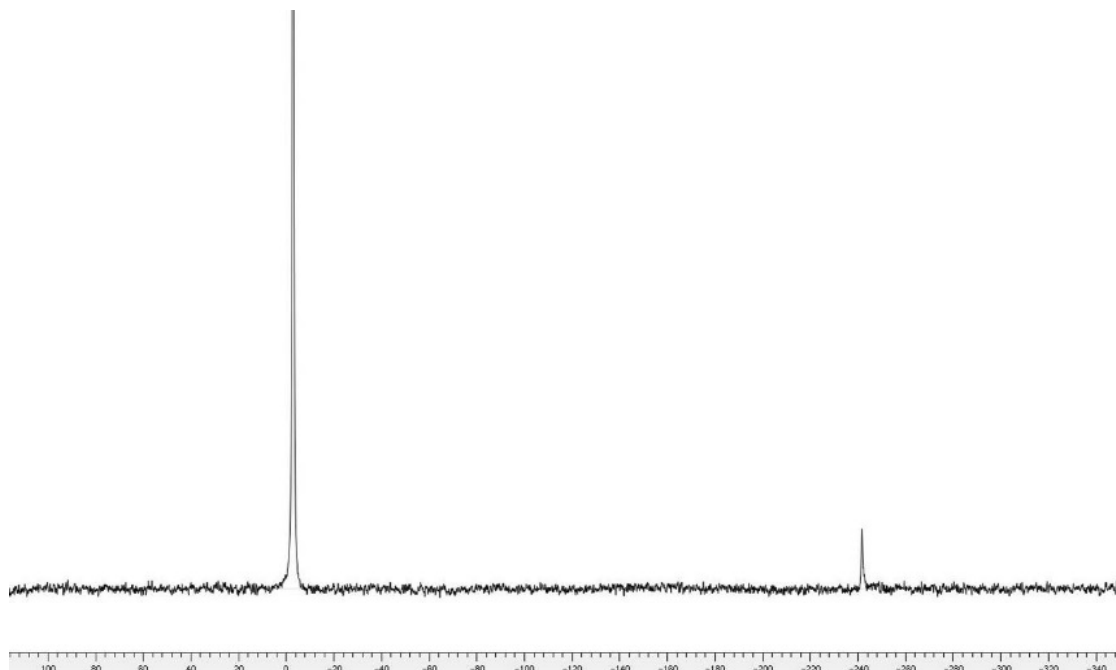


Figure 127 : Spectre RMN du noyau de césium 133 enregistré à 298 K pour une solution de NaOD/ D_2O contenant le cryptophane **1** et une faible quantité de CsOH.

Le spectre RMN du césium 133 montre la présence de deux environnements chimiques différents pour les noyaux de césium. Le pic aux alentours de 0 ppm est caractéristique du Cs^+ libre en solution tandis que le pic plus petit aux alentours de -260 ppm correspond au cation césium encapsulé à l'intérieur du cryptophane. Une variation de déplacement chimique de 240 ppm est visible entre les deux signaux ce qui est cohérent avec les résultats qui avaient été obtenus pour le cryptophane $[\text{223}](\text{OH})_6$ pour lequel le signal du césium encapsulé était visible autour de -280 ppm à 298 K.

Les études de RMN du césium précédemment menées pour les cryptophanes $[\text{223}](\text{OH})_6$ et $[\text{233}](\text{OH})_6$ ont montré des comportements différents et surprenants en fonction de la température pour le césium encapsulé dans ces deux cryptophanes (Figure 128).

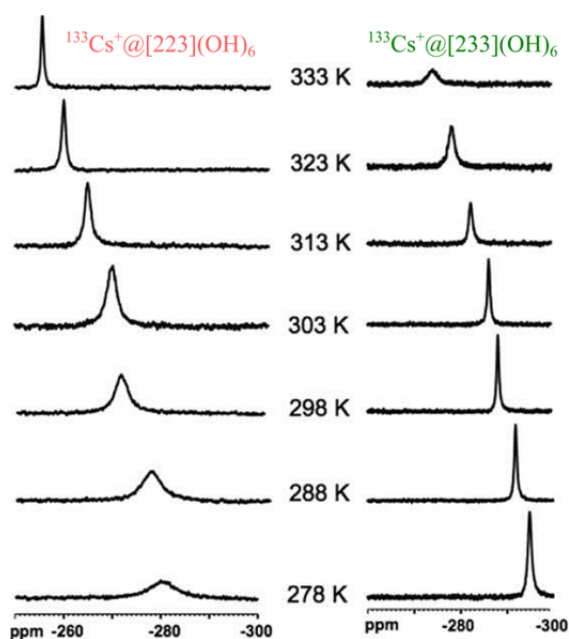


Figure 128 : Spectres RMN du ^{133}Cs montrant la zone du signal du césium encapsulé dans les cryptophanes $[223](\text{OH})_6$ et $[233](\text{OH})_6$ à différentes températures.

Les spectres RMN du ^{133}Cs montrent que le signal du césium encapsulé évolue différemment en fonction de la température pour les deux molécules hôtes. Pour le césium encapsulé dans le cryptophane $[223](\text{OH})_6$, une augmentation de la température va de pair avec un affinement des pics, tandis que, pour le césium encapsulé dans le cryptophane $[233](\text{OH})_6$, le pic du césium encapsulé semble s'élargir lorsque la température du système augmente. La complexation du césium au sein des deux cryptophanes est dans un régime d'échange lent par rapport à l'échelle des temps de la RMN du ^{133}Cs comme le montre la différence de déplacement chimique entre le césium libre en solution et le césium encapsulé. Pour un système en échange lent, une augmentation de la température entraîne une augmentation de la cinétique d'échange et tend à faire s'élargir les pics jusqu'à atteindre un phénomène de coalescence. L'évolution observée pour le cryptophane $[233](\text{OH})_6$ semble donc être en accord avec l'évolution attendue pour un tel système. À l'inverse, l'évolution observée pour le cryptophane $[223](\text{OH})_6$ est inattendue et clairement régie par un phénomène différent.

Une série de spectres RMN ont donc été enregistrés pour étudier l'effet de la température sur les signaux du césium au sein du cryptophane **1** et ainsi déterminer le type de comportement observé pour ce dernier. Les spectres obtenus sont présentés en figure 129.

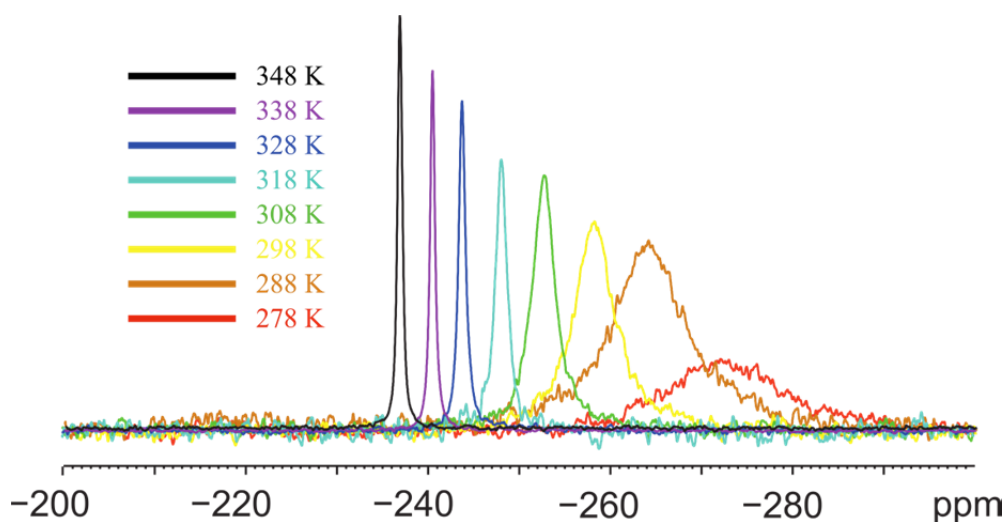


Figure 129 : Spectres RMN du noyau de césium ^{133}Cs enregistrés à des températures variant de 274 à 348 K pour une solution de $\text{NaOD}/\text{D}_2\text{O}$ contenant le cryptophane **1** et une petite quantité de CsOH .

Les spectres obtenus montrent que, lorsque la température du système augmente, le pic correspondant au césium encapsulé s'affine, ainsi à 348 K, le signal correspondant au Cs^+ encapsulé est détectable en quelques scans seulement. Le comportement observé pour le cryptophane **1** est donc similaire à celui observé pour le cryptophane $[\text{223}](\text{OH})_6$. La structure des cryptophanes **1** et $[\text{223}](\text{OH})_6$ étant très semblable, on peut s'attendre à ce qu'ils aient des cavités de taille comparable et toutes deux plus petites que celle du cryptophane $[\text{233}](\text{OH})_6$. D'après les observations tirées de l'étude des spectres ECD enregistrés lors de la complexation du césium, nous savons que les chaînes latérales du cryptophane s'adaptent lors de l'introduction du cation, de manière à réduire la taille de la cavité et optimiser les interactions avec ce dernier. Les chaînes pontantes d'un cryptophane pouvant adopter de nombreuses géométries, il existe sûrement un ensemble de conformations pour lesquelles les interactions avec le cation sont suffisamment stabilisantes pour créer des puits locaux d'énergie potentielle. Ces différentes conformations sont alors reliées entre elles par des équilibres conformationnels. Ces observations peuvent être faites pour les cryptophanes $[\text{223}]$ et les cryptophanes $[\text{233}]$. Cependant, pour les cryptophanes de type $[\text{223}]$, une plus faible flexibilité des chaînes pontantes entraîne certainement des cinétiques d'échanges plus lentes entre les différentes conformations du complexe $\text{Cs}^+@$ cryptophane. Par ailleurs, puisque la géométrie du complexe est modifiée dans chacune de ces conformations, l'environnement chimique du cation Cs^+ doit également se trouver très légèrement modifié. On peut alors imaginer qu'à faible température, la cinétique de l'équilibre conformationnel entre ces différentes formes est suffisamment ralentie pour que le spectre RMN reflète l'existence d'un ensemble de déplacements chimiques très proches pour le césium, donnant ainsi un pic global élargi (Figure 129, 274K). À l'inverse, une augmentation de température tend à augmenter la cinétique des équilibres conformationnels et à moyenniser l'environnement chimique du cation Cs^+ observé pendant une acquisition RMN, le signal du ^{133}Cs encapsulé apparaît alors comme un pic fin (Figure 129, 348 K).

Pour le cryptophane [233](OH)₆, deux paramètres sont à considérer. Tout d'abord, la plus grande flexibilité des chaînes pontantes induit certainement des cinétiques plus grandes pour les équilibres conformationnels, les différents environnements chimiques du cation césium se trouvent donc moyennés, même à faible température. Par ailleurs, la cinétique d'échange de l'équilibre d'entrée et sortie du cation césium au sein de la cavité est plus grande pour le cryptophane [233](OH)₆. Tout en restant dans un régime d'échange lent, on se rapproche du régime rapide observé pour le cryptophane [333](OH)₆, pour lequel, en présence de cation césium, un seul pic moyen est observé à -1,25 ppm en RMN ¹³³Cs. Une cinétique d'échange plus rapide signifie que le système est plus proche de la coalescence, et son comportement en fonction de la température se retrouve régi de manière prépondérante par ce phénomène.

Les résultats obtenus par la RMN du césium apportent une preuve supplémentaire de l'encapsulation du césium au sein de la cavité du cryptophane **1**. Par ailleurs, le système Cs⁺@cryptophane **1** se comporte de manière similaire au complexe formé entre le césium et le cryptophane [223](OH)₆ vis-à-vis de la variation de température. La présence de la fonction alcool latérale ne semble donc pas générer de modification sur les propriétés d'encapsulation du césium par rapport au cryptophane [223] de référence. Une dernière comparaison entre ces deux structures [223] peut être amenée par une étude des propriétés de complexation de thallium suivie par RMN du ²⁰⁵Tl. Les résultats obtenus par cette technique sont présentés dans la partie suivante.

V.2. RMN du Thallium

Les expériences de RMN du ²⁰⁵Tl ont été menées au CEA de Saclay en utilisant un montage particulier adapté à la détection de ce noyau.

Afin d'obtenir une étude comparée entre le cryptophane **1** et le cryptophane [223](OH)₆, un échantillon contenant les deux cryptophanes dans une solution de NaOD et de TlNO₃ dans D₂O a été préparée. Deux régions du spectre obtenu sont représentées en figure 130. Sur la première région, on peut voir un signal vers 330 ppm correspondant au déplacement chimique du thallium libre dans la solution. Sur la seconde partie du spectre, pour les valeurs négatives de déplacement chimique, deux signaux sont présents sous la forme de pics pour des déplacements chimiques respectifs du ²⁰⁵Tl de -580 ppm et -680 ppm. La comparaison avec les résultats rapportés dans la littérature pour l'encapsulation du Tl⁺ dans le cryptophane [223](OH)₆ (-575 ppm dans une solution de NaOD/D₂O à 0,1 mol.L⁻¹)¹⁵² permet d'identifier le pic à -680 ppm comme étant le signal thallium complexé dans le cryptophane **1**.

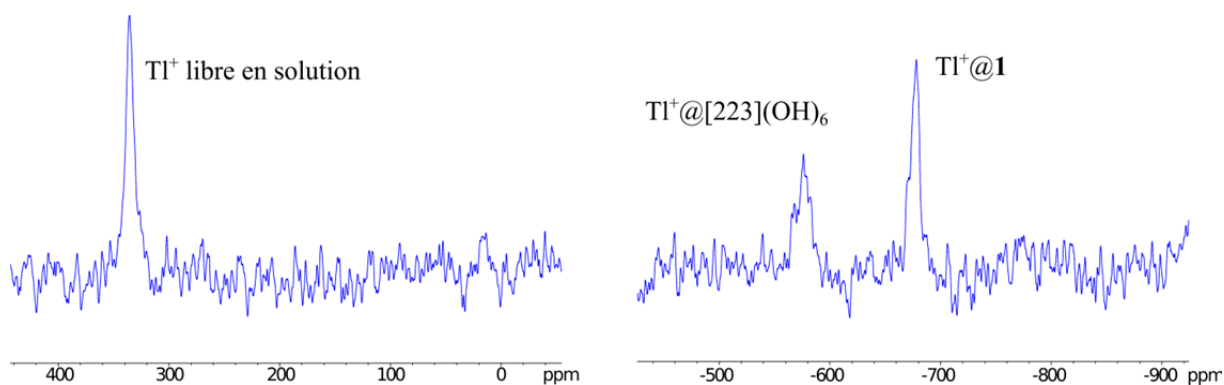


Figure 130 : Spectre RMN du ^{205}Tl dans une solution de $\text{NaOD/D}_2\text{O}$ (0,1M) et des cryptophanes **1** et $[\text{223}](\text{OH})_6$ à 348 K. À gauche : la région du spectre correspondant au thallium libre en solution. À droite : la région du spectre correspondant au thallium encapsulé dans la cavité d'un cryptophane.

Ce spectre confirme bien l'encapsulation du thallium au sein de la cavité du cryptophane **1**, ainsi que la similitude de comportement de ce cryptophane par rapport au cryptophane $[\text{223}](\text{OH})_6$. On peut tout de même noter que ces deux cryptophanes donnent lieu à un écart de plus de 100 ppm pour les signaux des cations thallium encapsulés. Ce résultat et le fait qu'il y a un écart d'environ 1000 ppm entre le thallium libre et le thallium encapsulé dans le cryptophane **1** montre à quel point la RMN est une technique sensible pour la détection du thallium dans les cryptophanes.

VI. Conclusion et perspectives

Cette partie a présenté les efforts mis en œuvre pour l'obtention du cryptophane **1** sous forme énantiopure. Les premiers essais de dédoublement chimique par formation de diastéréoisomères à partir des esters camphaniques ont montré la possibilité de séparer les deux diastéréoisomères, mais l'étape de réduction reste à mettre au point. En revanche, un dédoublement performant a pu être mise en place par HPLC chirale au niveau du cryptophane **18**, avec l'aide de N. Vanthuyne. Les différents énantiomères de **1** ont ensuite été obtenus par transformation **18**, et leurs propriétés chiroptiques ont été étudiées pour obtenir des informations sur les processus d'encapsulation des cations métalliques en solution aqueuse basique.

L'ensemble de l'étude réalisée sur la complexation des cations Cs^+ et Tl^+ par le cryptophane **1** montre des comportements en tous points similaires à ceux observés pour le cryptophane $[\text{223}](\text{OH})_6$. La principale conclusion de cette étude est alors que la présence de la fonction hydroxyle latérale ne perturbe pas les propriétés de complexation du cryptophane. Ces résultats sont encourageants et montrent que le cryptophane **1** et, par extension, le cryptophane **34** sont réellement de bons candidats pour des applications de greffage.

Pour obtenir un greffage de ces cryptophanes sur des surfaces, qu'il s'agisse de nanoparticules ou non, il faut tenir compte de la nature de la surface du matériau considéré. Dans le cas des nanoparticules superparamagnétiques développées au sein du laboratoire de T. Buffeteau et L. Vellutini à l'université de Bordeaux, celles-ci sont recouvertes d'or. Il serait alors intéressant de modifier légèrement la molécule **34** pour transformer la fonction alcool en fonction thiol, puisque cette dernière permettrait un greffage facile sur la surface d'or.

Conclusion générale

Chapitre 4 : Etude de la complexation des cations métalliques

La chimie des cryptophanes s'est développée au sein du laboratoire de l'ENS de Lyon depuis les années 80. L'émergence, depuis une quinzaine d'années, de l'utilisation de ces molécules pour l'encapsulation du xénon hyperpolarisé et la construction de biosondes pour l'IRM a contribué au large essor de la chimie de ces molécules hôtes. Les progrès techniques réalisés en termes de détection du xénon permettent à présent de se diriger vers des études *in vivo* de ces biosondes. Cependant, cette avancée nécessiterait l'utilisation de quantités importantes de biosondes, ce qui reste pour l'instant un frein pour les biosondes actuelles, en majeure partie construites à partir d'un cryptophane [222]. Un nouveau champ d'application des cryptophanes est apparu dans les cinq dernières années grâce aux études portant sur la complexation des cations métalliques en solution aqueuse basique par les cryptophanes polyphénoliques. Une évolution intéressante serait à présent d'obtenir un cryptophane polyphénolique pouvant être greffé sur une surface solide.

Pour répondre à ces demandes, ces travaux de thèse ont portés sur la conception et la synthèse de nouveaux cryptophanes de types [223] présentant une fonction chimique latérale ayant une réactivité différente de celle des groupements portés par les cycles aromatiques. Ces objectifs ont été atteints par la conception et la synthèse en quantités appréciables de deux générations de plateformes moléculaires destinées soit à l'encapsulation du xénon, soit à l'encapsulation des cations métalliques de type Cs^+ ou Tl^+ .

Nous nous sommes dans un premier temps intéressés aux cryptophanes polyphénoliques de type [223](OH)₇, qui présentent une fonction alcool secondaire sur l'un des bras pontants. Une fois la synthèse de ce composé mise au point sous forme racémique, ce dernier a été étudié pour permettre son obtention sous forme énantiopure. Cela a pu être possible grâce au dédoublement de l'un des précurseurs par HPLC chirale réalisé en collaboration avec N. Vanthuyne à l'Université d'Aix-Marseille. L'obtention de ce cryptophane [223](OH)₇ sous forme énantiopure a permis l'étude de ses propriétés chiroptiques à travers l'enregistrement de spectres de dichroïsme circulaire électronique. Ces spectres, combinés à des titrages calorimétriques et à des études par RMN du ¹³³Cs et du ²⁰⁵Tl, permettent de conclure que la nouvelle plateforme moléculaire polyphénolique présente d'excellentes propriétés d'encapsulation des cations métalliques Cs^+ et Tl^+ . Une étude comparée avec le cryptophane [223](OH)₆ révèle des propriétés de complexation très semblables et laisse à penser que la présence de la fonction alcool latérale n'a que très peu d'effet sur l'encapsulation des cations métalliques.

Ces résultats sont très encourageants. Il faut maintenant réaliser le greffage de ces cryptophanes sur des surfaces solides à travers l'introduction d'un bras d'accroche par alkylation de la fonction alcool latérale. Ces essais doivent être menés sur le cryptophane [223](OH)₇, mais également sur la plateforme polyphénolique de seconde génération qui présente une fonction alcool primaire latérale dont la réactivité devrait être accrue. Des applications en tant que filtres pour eaux polluées pourraient alors être tentées.

Conclusion générale

Dans un second temps, le cryptophane polyphénolique [223](OH)₇ a été fonctionnalisé pour introduire des groupements hydrosolubilisants de type acide carboxylique ou PEG au niveau des cycles aromatiques. Les molécules alors obtenues constituent des plateformes moléculaires pour la complexation du xénon hyperpolarisé. Leurs propriétés d'encapsulation du xénon ont été étudiées en collaboration avec P. Berthault au sein du CEA de Saclay. Il ressort de ces études que ces molécules présentent des cavités qui sont tout à fait adaptées à l'utilisation pour l'IRM du xénon hyperpolarisé, puisqu'elles donnent des signaux d'HyperCEST d'intensité comparable à ceux du cryptophane [222](COOH)₆ couramment utilisé pour la conception de biosondes pour le ¹²⁹Xe. Devant ces résultats prometteurs, nous avons cherché à fonctionnaliser l'alcool secondaire latéral. Les premiers essais ont permis une oxydation et une mésylation de cette fonction, mais aucune réaction d'alkylation n'a pu être réalisée à ce jour. D'autres réactions doivent être tentées sur ces systèmes et des optimisations sont attendues pour les réactions d'oxydation. Cependant, ce manque de réactivité nous a poussés à développer une seconde génération de plateformes pour lesquelles la fonction latérale réactive est éloignée du cryptophane par une chaîne éthyle. La nouvelle fonction alcool primaire ainsi obtenue confère un caractère nucléophile aux plateformes synthétisées. Cette fonction alcool a également pu être mésylée (dans le cas des groupements ester sur aromatiques), ce qui décline la nouvelle plateforme sous une forme électrophile. Il faudrait à présent tester la réactivité des nouvelles générations de plateformes par l'introduction de diverses entités de reconnaissance et la création de nouvelles biosondes pour l'IRM du xénon hyperpolarisé.

Enfin, des essais synthétiques ont porté sur la mise au point d'une entité de reconnaissance de type NTA destinée à la détection par IRM du xénon de cations métalliques de type Zn. L'idée était d'obtenir une unité NTA plus courte que celle utilisée par le groupe de B. Rousseau, afin de visualiser des effets de détection plus marqués en RMN du xénon ¹²⁹. Les essais entrepris ont permis de synthétiser un aziridinium présentant des propriétés électrophiles, dont le couplage avec une plateforme nucléophile devrait mener à l'obtention d'une nouvelle biosonde pour le xénon hyperpolarisé.

Partie expérimentale

General remarks

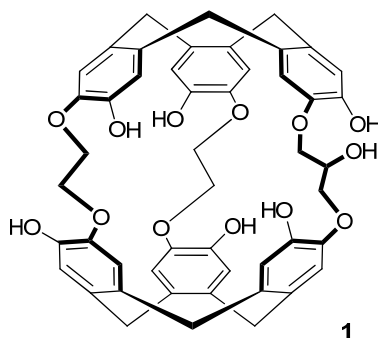
Organic synthesis. The HRMS-ESI mass spectra were recorded in positive-ion mode (or negative) on a hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometer with an Electrospray Ionization (ESI) ion source. ^1H and ^{13}C NMR spectra were recorded at 499.83 and 125.7 MHz, respectively. Chemical shifts are in δ values from Me_4Si (^1H , ^{13}C). Column chromatographic separations were carried out over silica gel 60 (0.040-0.063 mm). Analytical thin layer chromatography (TLC) was performed on silica gel TLC plates F-254. Melting point of compound **19** was measured on a calorimeter. The solvents were either distilled prior to use: DMF and CH_2Cl_2 from CaH_2 , THF from Na/benzophenone and pyridine from KOH or dried over molecular sieves (CH_2Cl_2 , THF) or purchased as dry and kept over molecular sieves (DMF and Acetonitrile).

ECD Measurements. ECD spectra were recorded at 293 K using a 1 cm path length quartz cell. The concentration of MM-1 was in the range $1\text{--}2 \times 10^{-5}$ M in basic H_2O solutions (different basic solutions). Spectra were recorded in the 220–400 nm wavelength range. Spectra were processed with standard spectrometer software.

ITC Experiments. Isothermal titration calorimetry (ITC) experiments were performed at 298 K. In a standard experiment, the host solution (~ 0.1 mM) in LiOH (0.1 M) was placed into the calorimeter cell (1.4 mL) and 28 successive aliquots (10 μL) of guest solution (10 times more concentrated) were added via a computer-automated injector at 3 min intervals. Heat changes were recorded after each addition. Heats of dilution were measured by a blank experiment (in absence of host) under the same conditions and they were subtracted from the titration data prior to curve fitting. The first injection was discarded from each data set to remove the effect of guest diffusion across the syringe tip during the equilibration process. Titrations curves were fitted with the one binding site model.

Synthesized compounds

(rac)-cryptophane 1:



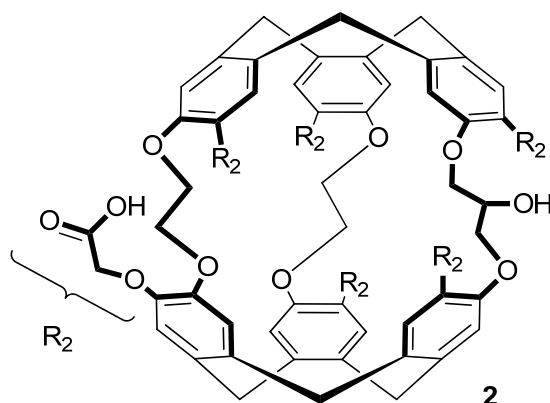
Method 1 (hydrolysis of cryptophane 23): Compound **1** was recovered by hydrolysis under basic solution. A solution of NaOH/H₂O (7 mL; 0.5 M) was added in one portion to a stirred solution of **13** (0.20 g, 0.17 mmol) in THF (7 mL). The mixture was stirred overnight at 60° C under an argon atmosphere for 16 hours. The organic layer was removed under reduced pressure and 7 mL of water was added to the solution. The solution was then cooled in an ice bath and acidified with few drops of a conc. HCl solution. The white precipitate was collected on a frit, washed several times with water and then dried on the frit. It was then washed several times with diethyl ether to give rise to compound **8** (0.13 g, 88%) as a pale yellow compound.

Method 2 (cyclisation of CTB 24): Freshly prepared lithium diphenylphosphide 1 M solution in THF (6.81 mL, 6.72 mmol) was added at room temperature to a stirred solution of cryptophane **24** (300 mg, 0.32 mmol) in 3 mL of dry THF. The dark red mixture was then heated at 60°C for 16 hours. The mixture was then poured in water (50 mL). The aqueous layer was washed four times with CH₂Cl₂ (15 mL each time). The aqueous layer was then collected and cooled to 0°C and acidified with a conc. HCl solution. The solid precipitate was collected on a frit, washed several times with water and Et₂O, and finally dried on a frit. The solid was then purified by column chromatography (AcOEt/EtOH/H₂O: 9/0.8/0.2) to give rise to cryptophane **1** as a white solid (220 mg, 81%).

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.56 (s, 1 H), 8.48 (s, 1 H), 8.43 (s, 1 H), 8.30 (s, 1 H), 8.14 (s, 1 H), 7.91 (s, 1 H), 6.77 (s, 1 H), 6.38 (s, 1 H), 6.69 – 6.63 (m, 8 H), 6.55 (m, 2 H), 5.32 (s, 1 H), 4.50 – 3.70 (m, 18 H), 3.22 (m, 6 H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ 146.4, 146.35, 145.7, 145.6, 145.5, 145.4, 145.3, 145.1, 144.5, 144.3 (2 C), 144.1, 133.9, 133.8, 133.6, 133.5, 133.3 (2 C), 131.1 (2 C), 130.5 (2 C), 129.5, 128.9, 120.2, 119.8, 119.0, 118.1 (2 C), 118.0, 117.6, 117.5, 117.4, 117.0, 116.9, 116.5, 71.5, 70.5, 69.2, 68.5 (3C), 68.2, 68.1, 35.1, 34.9, 34.8.

HRMS (ESI)[M+H]⁺ calcd. for C₄₉H₄₅O₁₃ 841.2892 found. 841.2855.

(rac)-cryptophane 2

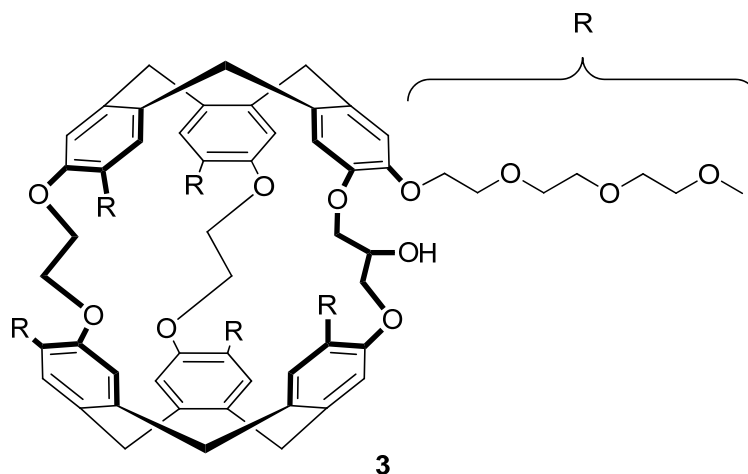
A solution of KOH/H₂O (5.7 mL, 28.4 mmol; 0.5 M) was added in one portion to a stirred solution of **25** (120 mg, 0.094 mmol) in THF (5 mL). The mixture was heated at 60°C for 18 hours. The THF layer was then removed under reduced pressure. Water (5 mL) was then added and the solution was cooled down with an ice bath. The aqueous solution was then acidified with few drops of a conc. HCl solution. The resulting precipitate was then collected on a frit and washed three times with water. It was then dried on the frit and finally washed several times with diethyl ether. The desired compound **2** was obtained as a white powder (95 mg; 85%).

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.90 (s, 3 H), 6.88 (s, 1 H), 6.85 (s, 1 H), 6.84 (s, 1 H), 6.83 (s, 1 H), 6.82 (s, 3 H), 6.80 (s, 1 H), 6.76 (s, 1 H), 4.80 – 4.40 (m, 19 H), 4.40 – 3.70 (m, 12 H), 3.31 (m, 6 H).

¹³C NMR (126.7 MHz, DMSO-*d*₆, 25°C) δ 170.9, 170.5 (5 C), 147.2 (5 C), 146.5 (3 C), 146.2, 146.0, 145.6 (2 C), 133.7, 133.5, 133.4, 133.3, 133.1, 133.0, 132.6 (2 C), 132.5 (2 C), 132.3 (2 C), 119.7, 119.4, 118.7 (2 C), 118.2, 118.0 (2 C), 117.0, 116.8, 116.5, 116.4, 116.2, 72.6, 70.8, 68.8, 68.0 (4 C), 66.6 (2 C), 66.1 (2 C), 65.8 (2 C), 34.9 (6 C).

HRMS (ESI) calcd for C₆₁H₅₇O₂₅ [M+ H⁺] 1189.3183, found 1189.3221.

(rac)-cryptophane 3

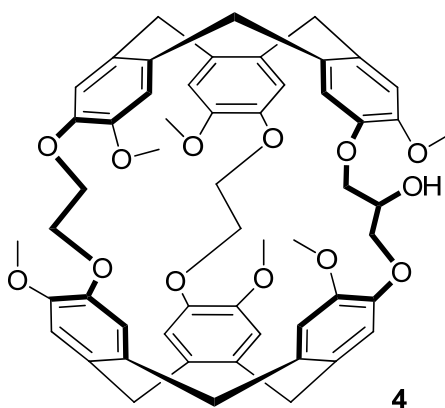


To a stirred solution of **1** (60 mg, 0.070 mmol) and K_2CO_3 (0.16 g, 0.84 mmol) in DMF (2 mL) was added the tosylate derivative **26** (0.44 g, 1.4 mmol) dissolved in DMF (2 mL). This solution was heated at 60 °C for 16 h under an atmosphere of argon. The solvent was evaporated and the residue was redissolved in 7:2:1 EtOAc: MeOH: H_2O and absorbed onto SiO_2 . Purification by flash chromatography on silica gel (eluent: EtOAc /MeOH/ H_2O : 7/2/1) afforded the product as a colorless oil. Precipitation of PEG impurities was achieved by dissolution in ether followed by filtration. Evaporation of the filtrate afforded the purified product as a colourless oil (0.10 g, 82%).

1H NMR (500 MHz, MeOD) δ 6.96 – 6.79 (12 H, m, ArH), 4.67 – 4.57 (6 H, m), 4.49 – 3.57 (87 H, m), 3.44–3.31 (23 H, m),

^{13}C NMR (125 MHz, MeOD) δ 149.5, 149.4, 149.3, 149.2(8) (2 C), 149.2(1), 149.1(4), 149.1(1), 148.9, 148.4, 147.8, 147.7, 135.3(5), 133.3(3), 135.3, 135.2, 135.1, 135.0, 134.7 (2 C), 134.5(2 C), 134.3(3), 134.3(0), 121.1, 121.0, 120.9, 120.8, 120.6, 120.4, 120.2, 120.0, 119.6, 119.3, 118.2, 117.4, 73.1, 73.0, 72.9, 72.2, 71.9, 71.8(5), 71.8(0), 71.6, 71.5, 71.4, 71.3, 71.2, 70.5, 69.5, 69.4, 69.2, 59.2, 59.1, 36.8, 36.7(4), 36.7(0), 36.6, 30.7 (32 magnetically equivalent carbons overlapping or obscured);

HRMS (ESI, $[M+2H]^{++}$) calcd. for $C_{91}H_{130}O_{31}$ 859.4293 found. 859.4277.

(rac)-cryptophane 4

A solution of **24** (800 mg, 0.75 mmol) in 200 mL of dry acetonitrile was added dropwise, over a period of 8 hours, to a stirred solution of $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ (925 mg, 1.9 mmol) in acetonitrile (20 mL) heated at 80°C. After complete addition, the solution was stirred for 10 hours at 80°C. The solvent was removed under reduced pressure to give a residue, which was then purified by column chromatography on silica gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Acetone}$: 8/2). A glassy product was obtained after evaporation of the solvents. Addition of Et_2O and filtration on a frit gives rise to the expected cryptophane **4** as a white solid (159 mg; 23%).

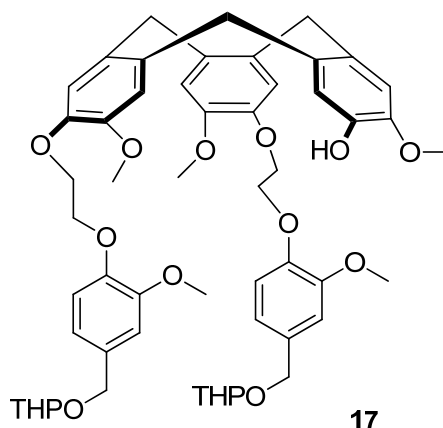
^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 25°C): δ = 6.86 - 6.84 (8 s, 8 H), 6.79 (s, 1 H), 6.76 (s, 1 H), 6.75 (s, 2 H), 4.93 (d, J = 3.5 Hz, 1 H), 4.51 (m, 6 H), 4.30 - 4.20 (m, 2 H), 4.15 - 3.90 (m, 7 H), 3.90 - 3.75 (m, 3 H), 3.74 (2 s, 6 H), 3.72 (s, 3 H), 3.71 (s, 3 H), 3.69 (s, 3 H), 3.67 (s, 3 H), 3.36 (m, 6 H).

^{13}C NMR (126.7 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 25°C) δ = 148.8 (2C), 148.7, 148.6, 147.9, 147.6, 146.6, 146.4, 145.6 (2C), 145.5 (2C), 133.8 (2C), 133.5 (2C), 132.3, 131.9, 131.7, 131.6, 131.4, 131.2, 131.0 (2C), 119.5, 119.4, 119.2, 118.9, 115.6, 114.6, 114.5, 114.1, 113.6, 113.5, 70.4, 69.3, 68.6 (3C), 68.1, 68.0, 56.1, 55.6, 55.5 (2C), 55.4, 54.9, 35.0 (2C), 34.8 (4C).

HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{55}\text{H}_{57}\text{O}_{13}$ [$\text{M}+\text{H}^+$] 925.3794, found 925.3815.

Partie expérimentale

Compound 17 (mixture of diastereomers)



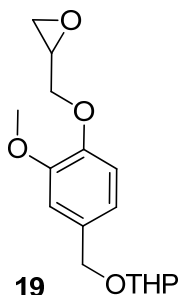
Pyridinium para-toluene sulfonate (0.12 g, 0.47 mmol) dissolved in CH_2Cl_2 (5 mL) was added in one portion to a stirred solution of bis-functionalized CTB 7 (1.82 g, 2.38 mmol), 3,4-dihydropyran (0.56 g, 6.66 mmol) in THF (40 mL). The solution was stirred for 16 hours at room temperature. Solvents were removed under reduced pressure to give an oily residue. Water and AcOEt were added and the aqueous layer was extracted twice with AcOEt. The combined organic layers were washed once with brine and then dried over Na_2SO_4 . Filtration and evaporation of the solvent gave an oily residue, which was then purified by column chromatography (AcOEt 70/ petroleum ether 30). The second spot eluted on the column was collected and the fractions evaporated under reduced pressure. Compound 17 was thus collected as a white glassy product (1.6 g, 72%).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3 , 25°C): δ = 7.00 (s, 2H), 6.9 – 6.77 (m, 10H), 5.44 – 5.40 (2s, 1H; OH), 4.73 – 4.66 (m + d, J = 11.5 Hz, 7H), 4.42 (d, J = 11.5 Hz, 2H), 4.34 (m, 8H), 3.93 (m, 2H), 3.91-3.71 (m, 15 H), 3.50 (m, 5H), 1.80 – 1.40 (m, 12H).

^{13}C NMR (126.7 MHz, CDCl_3 , 25°C) δ = 149.5 (2C), 148.5 (2C), 147.5 (2C), 146.9, 146.7, 145.3, 144.1, 133.0, 132.9, 132.2, 132.0, 131.7, 131.6, 131.2, 120.5 (2C), 116.8, 116.7, 116.6, 115.6, 113.8, 113.6 (2C), 112.1, 111.9 (2C), 68.7, 68.2, 68.1, 67.7 (2C), 62.2 (2C), 56.2 (2C), 55.9, 55.8 (2C), 36.4 (2C), 36.2, 30.6 (2C), 25.4 (2C), 19.4 (2C).

HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{54}\text{H}_{64}\text{O}_{14}\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}^+$] 959.4194, found 959.4191.

2-((3-methoxy-4-(oxiran-2-ylmethoxy)benzyl)oxy)tetrahydro-2H-pyran **19** (mixture of diastereomers)



(rac)-2-(chloromethyl)-oxirane (7.8 g, 6.6 mL, 84 mmol) dissolved in acetonitrile (10 mL) was added in one portion to a mixture of 2-methoxy-4-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)methyl)phenol (4.0 g, 16.8 mmol), cesium carbonate (5.48 g, 16.8 mmol) in dry acetonitrile (30 mL). The mixture was heated for 48 hours at 95°C under an argon atmosphere. The solvent was then removed under reduced pressure. Water was added to the residue and the desired compound was extracted twice with diethyl ether. The organic layer was washed with brine then dried over sodium sulfate. Filtration and evaporation of the solvent under reduced pressure gave a residue, which was purified on silica gel (eluent: Et₂O/petroleum ether: 80/20). The desired oxirane **19** was then collected as an oily product (3.2 g, 65%), which rapidly recrystallizes to give a white solid.

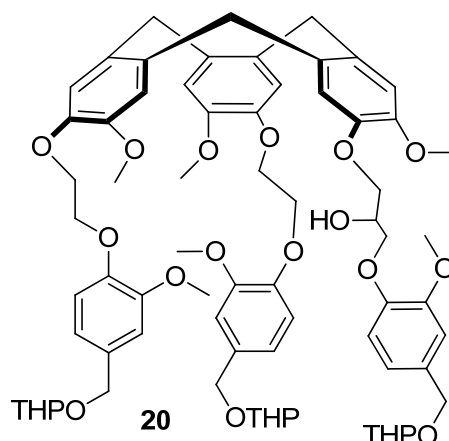
Melting point: 40° C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 6.91-6.87 (m, 3 H), 4.70 (d, *J* = 12 Hz, 1 H), 4.66 (m, 1 H), 4.42 (d, *J* = 12 Hz, 1 H), 4.20 (m, 1 H), 4.05 (m, 1 H), 3.88 (m, 1 H), 3.86 (s, 3 H), 3.53 (m, 1 H), 3.37 (m, 1 H), 2.88 (m, 1 H), 2.72 (m, 1 H), 2.00-1.40 (m, 6 H).

¹³C NMR (126.7 MHz, CDCl₃, 25°C) δ = 149.5, 147.4, 131.9, 120.4, 114.0, 111.9, 97.6, 70.3, 68.7, 62.2, 55.9, 50.1, 44.9, 30.4, 25.4, 19.4.

Elemental analysis: Calcd for C₁₆H₂₂O₅ (294.347): C, 65.29; H, 7.53. Found: C, 65.46; H, 7.78.

Compound **20** (mixture of diastereomers)

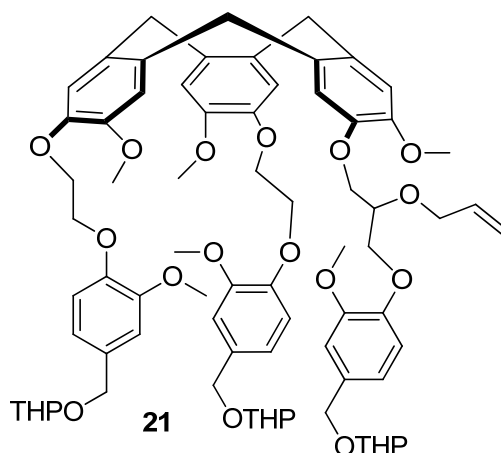


1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane (0.12 g, 1.0 mmol) was added to a solution of **17** (2.0 g, 2.13 mmol) in dry DMF (20 mL). The solution was stirred for 15-20 min at room temperature then oxirane **19** (1.27 g, 4.3 mmol) was added to the solution under an argon atmosphere. The solution was then heated at 100°C for 48 hours. The dark solution was then poured in water and the compound was extracted several times with AcOEt. The combined organic layers were washed several times with water to remove DMF and then dried over sodium sulfate. Filtration followed by evaporation of the solvent gives a residue, which was purified on silica gel (eluent: AcOEt 90/petroleum ether 10 then AcOEt 100%). Complete removal of the solvent under reduced pressure affords compound **20** as a white glassy product (2.0 g; 76%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 25°C): δ 6.94 – 6.81 (m, 15 H), 4.75 – 4.65 (m, 9 H), 4.42 (d, *J* = 12 Hz, 3 H), 4.33 (m, 9 H), 4.21 – 4.00 (m, 4 H), 3.90 (m, 3 H), 3.84 – 3.69 (m, 18 H), 3.53 – 3.50 (m, 6 H), 1.85 – 1.50 (m, 18 H).

¹³C NMR (126.7 MHz, CDCl₃, 25°C) δ 149.7, 149.5, 148.6, 147.6, 146.9, 146.7, 133.3, 133.0, 132.9, 132.2, 132.1, 131.9, 131.8, 131.7, 131.6, 120.5, 117.1, 117.0, 116.7, 114.9, 114.6, 113.8, 111.9, 111.85, 97.6, 71.5, 71.4, 71.1, 70.9, 68.7, 68.5, 68.2, 67.7, 62.3, 56.2, 56.1, 55.9, 55.8, 36.4, 30.6, 25.4, 19.5.

HRMS (ESI) calcd for C₇₀H₈₆O₁₉Na [*M*+Na⁺] 1253.5661, found 1253.5666.

Compound 21 (mixture of diastereomers)

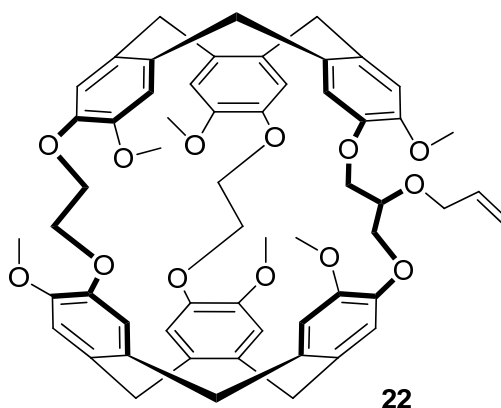
CTB **20** (2.0 g, 1.6 mmol) in THF (20 mL) was added dropwise to a cooled solution (0° C) of sodium hydride (0.130 g, 60% in oil; 3.3 mmol) in THF (5 mL). The solution was allowed to warm to room temperature and was stirred for 20 min at this temperature under an argon atmosphere. Then, allyl bromide (0.39 g, 0.28 mL, 3.3 mmol) was added with a syringe. The solution was heated at 80° C overnight under argon. The solution was poured in cold water and was extracted four times with AcOEt. The combined organic layers (V = 400 mL) were washed two times with brine and then dried over Na₂SO₄. Filtration and elimination of the solvent under reduced pressure leaves a residue, which was then purified on silica gel (AcOEt/petroleum ether: 75/25). Evaporation of the solvents under reduced pressure gives rise to compound **21** (1.76 g, 85%) as white glassy product.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 25°C): δ 7.07 – 6.80 (m, 15 H), 5.88 (m, 1 H), 5.26 – 5.10 (m, 2 H), 4.71 – 4.65 (m, 9 H), 4.43 – 4.40 (d, *J* = 12 Hz, 3 H), 4.33 (m, 8 H), 4.29 – 4.03 (m, 7 H), 3.90 (m, 3 H), 3.87 – 3.65 (m, 18 H), 3.58 – 3.45 (m, 6 H), 1.83 – 1.43 (m, 18 H).

¹³C NMR (126.7 MHz, CDCl₃, 25°C) δ 149.7, 149.5, 148.5, 147.8, 147.6, 147.1, 146.9, 134.9, 133.0, 132.7, 132.5, 131.9, 131.6, 120.5, 117.2, 116.7, 116.1, 115.8, 113.8, 113.7, 113.5, 112.1, 111.9, 97.6, 75.6, 71.8, 71.7, 70.0, 69.9, 69.4, 69.1, 68.7, 68.2, 67.7, 62.3, 56.2, 56.0, 55.9, 36.4, 30.6, 25.5, 19.5.

HRMS (ESI) calcd for C₇₃H₉₀O₁₉Na [*M*+Na⁺] 1293.5974, found 1293.5973.

(rac)-cryptophane-22



formic acid (300 mL) was added in one portion to a solution of **21** in CHCl₃ (300 mL). The solution was stirred for 5 hours at 60° C. the solvents were removed under reduced pressure to leave a yellow residue. CHCl₃ was added several times to remove traces of formic acid (azeotropic distillation). The residue was purified by column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/Acetone: 90/10). The second spot was collected and the solvents were removed under reduced pressure. The pale yellow solid was then washed with diethyl ether on a frit. Another column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/Acetone: 90/10) provides compound **22** as a white solid (0.23 g, 44%). It was then recrystallized in a CHCl₃/EtOH mixture.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 6.77 (s, 2H), 6.72 (s, 2H), 6.66 (s, 2H), 6.65 (s, 1H), 6.64 (s, 3H), 6.58 (s, 1H), 6.55 (s, 1H), 6.00 (m, 1H), 5.4-5.2 (m, 2H), 4.61 (3d, J = 13.5 Hz, 3H), 4.58 (3d, J = 13.5 Hz, 3H), 4.30 – 3.82 (m, 12 H), 3.80 (2s, 6H), 3.78 (s, 3H), 3.71 (2s, 6H), 3.75 (s, 3H), 3.41 (2d, J = 13.5 Hz, 2H), 3.38 (2d, J = 13.5 Hz, 4H).

¹³C NMR (126.7 MHz, CDCl₃, 25°C) δ = 149.5 (3 C), 149.4, 148.2, 147.7, 147.1, 146.7 (3 C), 146.6 (2 C), 135.0, 134.0 (2 C), 133.9 (2 C), 133.3, 132.2, 131.9 (2 C), 131.5 (2 C), 130.8, 130.7, 120.4 (2 C), 120.2 (2 C), 117.4, 114.0 (2C), 113.8, 113.5 (3 C), 113.3, 112.5, 75.8, 70.90, 69.6 (2 C), 68.95 (2 C), 66.2, 65.9, 56.2 (2 C), 55.8 (2 C), 55.5 (2 C), 36.5 (2 C), 36.1 (2 C), 36.0 (2 C).

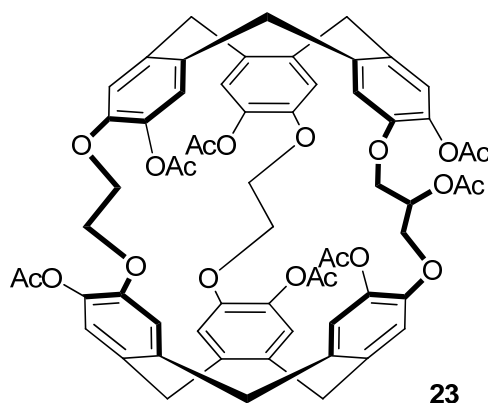
HRMS (ESI) calcd for C₅₈H₆₀O₁₃ [M^+] 964.4034, found 964.4033.

POLARIMETRY

$\alpha_{589}^{25}(PP-(+)-\mathbf{22}) = +200.2$ ($c = 2,50 \text{ mg.mL}^{-1}$, CHCl₃)

$\alpha_{589}^{25}(MM-(-)-\mathbf{22}) = -204.9$ ($c = 2,38 \text{ mg.mL}^{-1}$, CHCl₃)

Synthesis of (rac)-anti-cryptophane-23



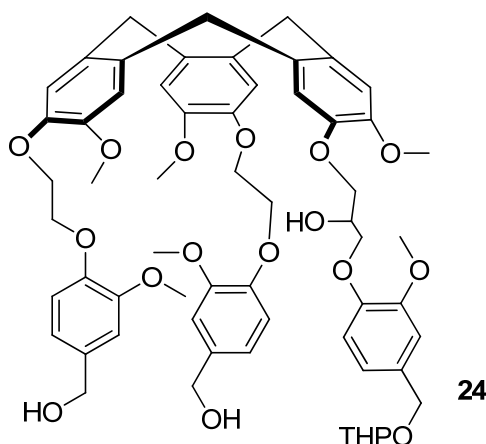
Acetic anhydride (1.4 mL) was added in one portion to a cooled solution of **1** (0.22 g, 0.26 mmol) in pyridine. The solution was then allowed to warm to room temperature and was stirred for 4 – 5 hours. The solution was then poured into a cooled mixture of CH₂Cl₂/H₂O. The product was extracted three times with CH₂Cl₂. The combined organic layers was then washed once with H₂O and then dried over Na₂SO₄. Filtration followed by removal of the solvent under reduced pressure leaves an oily residue, which was purified by chromatography on silica gel. Purification on silica gel (CH₂Cl₂/Acetone: 90/10) gives rise to compound **23** (0.22 g, 74%) as a white glassy solid.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7.13 (s, 1H), 7.09 (s, 2H), 7.04 (s, 1H), 7.02 (s, 2H), 6.99 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.935 (s, 1H), 6.93 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 4.89 (m, 1H), 4.65 – 4.55 (m, 6H), 4.30 – 3.95 (m, 12H), 3.45 (m, 6H), 2.39 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 2.29 (s, 6H), 2.28 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 0.18 (s, broad, 3H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 170.2, 167.0 (4 C), 168.8 (2 C), 149.2 (2 C), 149.1, 149.0, 148.7, 148.4, 140.7 (2C), 140.6, 140.5, 139.4, 139.1, 138.5, 138.3, 138.2, 138.0, 137.5, 137.2, 133.85, 133.8, 133.7, 133.4, 132.4, 132.0, 125.0, 124.9, 124.5, 124.4, 124.0, 123.4, 120.8, 120.4, 120.2, 120.1, 114.7, 114.1, 70.8, 69.5, 69.2, 65.0, 64.5, 36.6, 36.5, 36.2 (4 C), 21.0 (5 C), 20.8.

HRMS (ESI) calcd for C₆₃H₅₉O₂₀ [M+H⁺] 1135.3594, found 1135.3625.

Compound **24** (mixture of diastereomers)

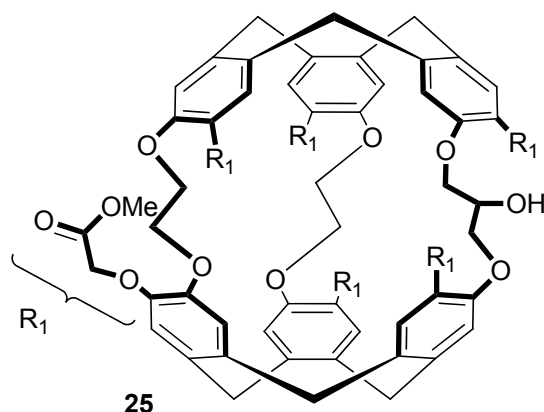


Oxirane **19** (3 g, 7.85 mmol) was added in one portion to a solution containing compound **7** (3 g, 3.9 mmol), cesium carbonate (6.45 g, 19.8 mmol) in Acetone (15 mL). The mixture was heated under reflux condition for 36 hours. The solvent was then removed under reduced pressure to give a residue, which was poured in a mixture of CHCl₃ and water. The aqueous layer was extracted three times with CHCl₃ and the combined organic layers were washed once with brine and then dried over sodium sulphate. Filtration of the solution followed by evaporation of the solution under reduced pressure gives an oily residue, which was purified by chromatography on silica gel (AcOEt/EtOH: 9/1). The desired CTB **24** was finally obtained as a white solid (3.07 g; 73%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 25°C): δ = 7.00 – 6.68 (m, 15 H), 4.73-4.66 (m, 5 H), 4.58 – 4.56 (m, 3 H), 4.48 – 4.29 (m, 9 H), 4.21 – 4.03 (m, 5 H), 3.89 (m, 1 H), 3.82 – 3.46 (m, 21 H), 3.28 – 3.26 (m, 2 H), 1.83 -1.53 (m, 6 H).

¹³C NMR (126.7 MHz, CDCl₃, 25°C) δ = 149.8, 149.7, 149.5, 148.7, 148.5, 147.9, 147.5, 147.4, 147.3, 146.7, 146.5, 146.4, 134.6, 133.2, 133.0, 132.9, 131.95, 131.9, 131.8, 131.7, 120.5, 120.4, 119.3, 117.5, 116.7, 116.0, 114.65, 114.4, 114.0, 113.9, 113.7, 113.2, 111.8, 110.9, 97.5, 73.3, 71.5, 71.1, 70.9, 70.2, 69.0, 68.65, 68.3, 68.2, 68.1, 67.8, 65.0, 62.3, 60.3, 56.2, 56.1, 55.8, 55.7, 55.6, 55.2, 36.3, 30.5, 25.4, 21.0, 19.4.

HRMS (ESI) calcd for C₆₀H₇₀NaO₁₇ [M+Na⁺] 1085.4505, found 1085.4470.

(rac)-cryptophane 25:

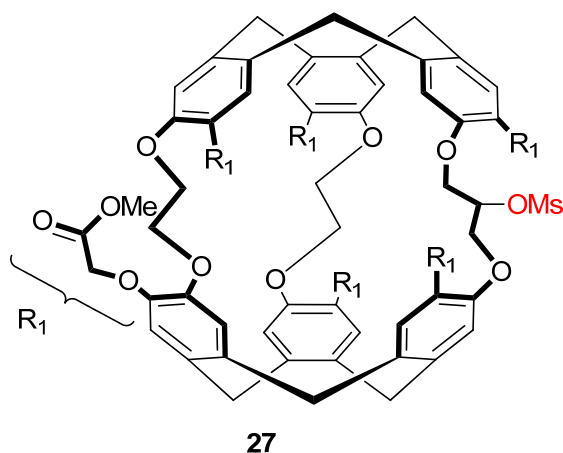
Methylbromoacetate (67.5 μ L, 0.71 mmol) was added to a stirred mixture of **1** (50 mg, 0.06 mmol), potassium carbonate (99 mg, 0.71 mmol) in dry DMF (4 mL). The mixture was stirred for 20 hours at room temperature under an argon atmosphere. The reaction was then quenched by addition of water and ethyl acetate (EtOAc). The aqueous layer was extracted twice with EtOAc and then dried with sodium sulphate. Filtration followed by evaporation of the solvent under reduced pressure gives rise to a white solid. Purification by column chromatography (CHCl₃/Acetone: 7/3) gives the desired compound **25** as a white solid (40 mg, 53%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.81 (s, 1 H), 6.80 (s, 1 H), 6.78 (s, 1 H), 6.77 (s, 1 H), 6.76 (s, 1 H), 6.73 (s, 1 H), 6.69 (s, 1 H), 6.67 (s, 3 H), 6.65 (s, 2 H), 4.70 – 4.40 (m, 18 H), 4.40 – 3.90 (m, 13 H), 3.84 (s, 6 H), 3.81 (s, 12 H), 3.50 – 3.30 (m, 6 H).

¹³C NMR (126.7 MHz, CDCl₃, 25°C) δ 170.0, 169.9 (2 C), 169.8, 169.7 (2 C), 147.7, 147.6 (2 C), 147.5, 147.4 (4 C), 147.3 (2 C), 147.1, 146.8, 134.5, 133.7, 133.5, 134.4 (2 C), 133.35, 133.3, 133.25, 133.2, 132.7, 132.5, 120.9, 120.8, 120.0 (2 C), 119.3 (2 C), 118.3, 118.0, 117.9, 117.5 (2 C), 115.9, 71.3, 69.4, 69.2, 68.7, 68.6, 68.3, 67.7 (3 C), 67.6, 67.2, 67.1 (2 C), 52.15, 52.1, 52.05 (2 C), 52.0 (2 C), 36.2 (2 C), 35.9 (4 C).

HRMS (ESI) calcd for C₆₇H₆₉O₂₅ [M+ H⁺] 1273.4122, found 1273.4111.

(rac)-cryptophane **27**:

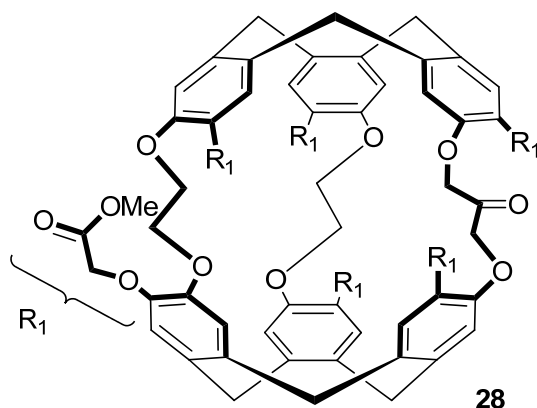


Mesyl chloride (364 μL) was added under argon to a stirred solution of cryptophane **24** (0.2 g, 0.157 mmol) in a mixture CH_2Cl_2 (10 mL) and pyridine (670 μL). The solution refluxed for 60 hours. TLC ($\text{CHCl}_3/\text{Acetone}$: 70/30) was used to monitor the reaction. After completion, methanol (10 mL) was added to the solution. Evaporation of the solvents gave rise to a dark brown solid. Water and CH_2Cl_2 were added and the aqueous phase was extracted three times with CH_2Cl_2 . The combined organic layers were washed with water and with brine then dried over Na_2SO_4 . Filtration and evaporation of the solvents under reduced pressure gave a yellow solid, which was purified by column chromatography on silica gel ($\text{CHCl}_3/\text{Ethyl Acetate}$: 50/50). Evaporation of the solvents followed by a recrystallization in a $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ mixture gave the compound **27** (151 mg, 71%) as a white solid.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6.94 (s, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.76 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.54 (s, 1H), 5.08 (m, 1H), 4.80 – 4.40 (m, 29H), 3.90 (m, 1H), 3.85 (s, 6H), 3.80 (s, 12H), 3.45 – 3.31 (m, 6H), 3.31 (s, 3H).

^{13}C NMR (126.7 MHz, CDCl_3 , 25°C) δ 170.0, 169.9 (2 C), 169.8, 169.7, 169.3, 147.8 (3 C), 147.6, 147.5, 147.3, 147.2, 147.1, 147.0 (4 C), 134.7, 134.3, 133.9, 133.7, 133.6, 133.35 (2 C), 133.3, 133.2, 133.1, 133.0, 132.8, 121.4, 120.7, 120.6, 120.1, 120.05, 119.0, 118.9, 118.0, 117.3, 116.8, 116.4, 116.35, 81.4, 70.8, 69.8, 69.5, 69.05, 68.7, 68.5, 68.0, 67.6, 66.6 (3 C), 66.3, 52.15, 52.1 (2 C), 52.05, 52.0 (2 C), 38.8, 36.1 (3 C), 36.0 (2 C), 35.9.

HRMS (ESI) calcd for $\text{C}_{68}\text{H}_{70}\text{NaO}_{27}\text{S}$ [$\text{M}+\text{Na}^+$] 1373.3717, found 1373.3760.

(rac)-cryptophane 28:

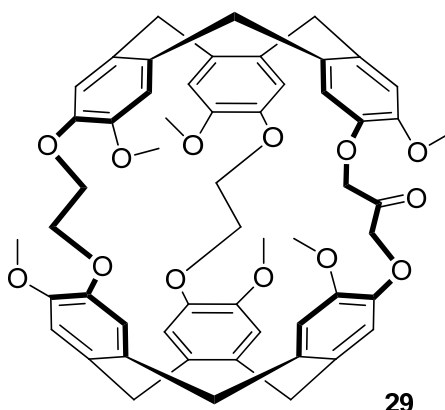
A solution of Dess Martin's reagent (15% wt solution in DCM, 234 μ L, 0,110 mmol) to a stirred solution of cryptophane **25** (31 mg, 0,0243 mmol) in 45 mL of DCM. The mixture was refluxed for 48 h. Mass spectrometry was used to monitor the reaction. When the reactant's signal could no longer be detected, the mixture was cooled to room temperature. Evaporation of the solvents led to a brown oil that was purified by column chromatography on silica gel (CHCl_3 /Ethyl Acetate: 50/50) Evaporation of the solvents followed by a precipitation in a mixture (DCM/EtOH) gave the compound **28** (10 mg, 34%) as a white solid.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6.95 (m, 4H), 6.91 (s, 2 H), 6.90 (s, 2H), 6.78 (s, 2H), 6.76 (s, 2 H), 4,97-4,81 (m, 6 H), 4.72 – 4.63 (m, 16 H), 4,41 (s broad, 8 H), 3.99 (s, 6 H), 3.96 (s, 6 H), 3.93 (s, 6 H), 3.55 – 3.50 (m, 6H).

^{13}C NMR (126.7 MHz, CDCl_3 , 25°C) δ 203.5, 170.1 (2 C), 169.9 (2 C), 169.5 (2C), 147.83 (2 C), 147.76 (2 C), 147.59 (2 C), 147.31 (2 C), 147.2 (2 C), 147.14 (2 C), 134.45 (2 C), 134.05 (2 C), 133.98 (2 C), 133.92 (4 C), 133.29 (2 C), 120.9 (4 C), 119.89 (2 C), 119.85 (2 C), 117.55 (2 C), 117.12 (2 C), 75.11 (2 C), 69.25 (2 C), 68.93 (2 C), 68.05 (2 C), 67.1 (2 C), 66.86 (2 C), 52.35 (4C), 52.26 (2 C), 36.3 (2 C), 36.19 (4 C).

HRMS (ESI, $[\text{M}+\text{Na}]^+$) calcd. for $\text{C}_{67}\text{H}_{66}\text{NaO}_{25}$: 1293.3785 found. 1293.3758

(rac)-cryptophane **29**:

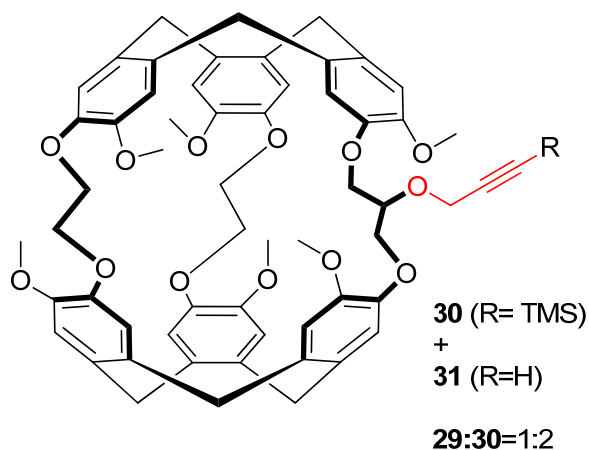


A solution of Dess Martin's reagent (15% wt solution in DCM, 651 μ L, 0,270 mmol) to a stirred solution of cryptophane **4** (50 mg, 0,0541 mmol) in 5 mL of DCM. The mixture was refluxed for 48 h. Mass spectrometry was used to monitor the reaction. When the reactant's signal could no longer be detected, the mixture was cooled to room temperature. Evaporation of the solvents led to a brown oil that was purified by column chromatography on silica gel (CHCl_3 /Ethyl Acetate: 90/10) Evaporation of the solvents gave the compound **29** (13 mg, 26%) as a white solid.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6.77 (s, 1 H), 6.73 (s, 1 H), 6.70 (s, 1 H), 6.67 (s, 1 H), 6.66 (s, 1 H), 6.62 (s, 1 H), 4.82 (s, 1 H), 4.79 (s, 1 H), 4.62 – 4.55 (m, 8 H), 4.21 – 4.10 (m, 8 H), 3.80 (s, 6 H), 3.77 (s, 6 H), 3.76 (s, 6 H), 3.42 – 3.38 (m, 6H).

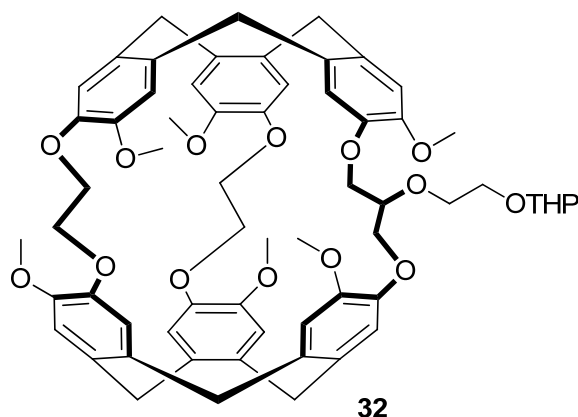
^{13}C NMR (126.7 MHz, CDCl_3 , 25°C) δ 203.5, 149.85 (2 C), 149.78 (2 C), 148.53 (2 C), 146.82 (2 C), 146.75 (2 C), 146.32 (2 C), 134.56 (2 C), 134.23 (2 C), 134.12 (2 C), 132.30 (2 C), 131.45 (2 C), 120.57 (2 C), 120.42 (2 C), 118.64 (2 C), 114.41 (2 C), 113.71 (2 C), 113.51 (2 C), 74.22 (2 C), 69.67 (2 C), 69.07 (2 C), 56.36 (2C), 55.85 (2 C), 55.62 (2 C), 36.41 (4 C), 36.36 (2 C).

HRMS (ESI, $[\text{M}+\text{Na}]^+$) calcd. for $\text{C}_{55}\text{H}_{54}\text{NaO}_{13}$: 945.3457 found. 945.3448

Mixture of (rac)-cryptophane 30 and (rac)-cryptophane 31:

(3-bromo-1-propyn-1-yl) trimethylsilane (11 μL , 81 μmol) is added to a stirred solution of cryptophane **4** (50 mg, 54 μmol) and potassium tert-butoxyde (12 mg, 108 μmol) in DMF (5 mL). The mixture is heated under argon at 60°C overnight. The next day the reaction is stopped by addition of water and ethyl acetate. The aqueous phase is extracted by ethyl acetate and the combined organic layers are washed by water and dried over sodium sulfate. Filtration and evaporation of the solvents under reduced pressure gave dark oil that was not purified but used as such in the next reaction.

Cryptophane **32** (mixture of diastereomers)

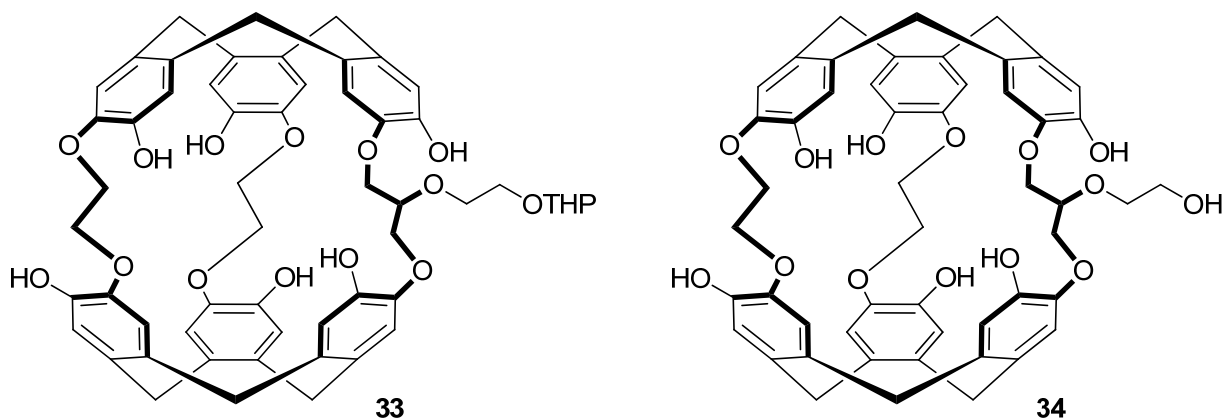


Sodium hydride (60% dispersion in oil, 692 mg, 17.3 mmol) is added under argon to a stirred solution of cryptophane **4** (800 mg, 0.865 mmol) in DMF (20 mL). The mixture is heated at 60°C then 2-(2-chloroethoxy)tetrahydro-2*H*-pyran (1.28 mL, 8.65 mmol) is added and the heating is maintained overnight. The next day, the reaction is stopped by addition of water and ethyl acetate. The aqueous phase is extracted by ethyl acetate and the combined organic layers are washed by water and brine then dried over Na₂SO₄. Filtration and evaporation of the solvents under reduced pressure gave a brown oil which was purified by column chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/acetone: 8/2). Evaporation of the solvents gave the compound **32** (158 mg, 75%) as a white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.83 (m, 2 H), 6.79 (m, 2 H), 6.72-6.71 (m, 6 H), 6.64 (m, 2 H), 4.74 (m, 1 H), 4.68-4.63 (m, 6 H), 4.31-3.43 (m, 43 H), 2.05-1.57 (m, 6 H).

¹³C NMR (126.7 MHz, CDCl₃, 25°C) δ 149.6 (2 C), 149.5, 149.4, 148.2, 147.8, 147.2, 146.8 (2 C), 146.7, 146.6 (2 C), 134.0 (2 C), 133.9 (2 C), 132.3 (2 C), 132.0 (2 C), 131.5 (2 C), 130.8 (2 C), 120.6, 120.5, 120.4, 120.3, 114.1, 113.9, 113.7, 113.64, 113.59, 113.5, 113.4, 112.6, 99.1, 77.27, 69.8, 69.7, 69.2, 66.89, 66.77, 66.47, 65.94, 62.47, 62.45, 56.42 (2 C), 55.9 (2 C), 55.7 (2 C), 36.54, 36.49, 36.16 (2 C), 36.08 (2 C), 30.06, 25.5, 19.6.

HRMS (ESI, [M+Na]⁺) calcd. for C₆₂H₆₈NaO₁₅ 1075.4450 found. 1075.4404.

Cryptophane 33 (mixture of diastereomers) and (*rac*)-**Cryptophane 34**

Freshly prepared lithium diphenylphosphide 1 M solution in THF (8.08 mL, 7.98 mmol) is added at room temperature to a stirred solution of cryptophane **32** (400 mg, 0.380 mmol) in 3.5 mL of dry THF. The dark red mixture is then heated at 60°C for 16 hours. The reaction is stopped by adding water and DCM. The organic layer is extracted with a solution of NaOH 10%. The combined aqueous layers are then washed several times with DCM then cooled to 0°C and acidified with a conc. HCl solution (in order to reach pH=1). The solid precipitate is collected on a frit, washed several times with water and Et₂O, and finally dried on a frit. The off-white solid is then purified by column chromatography (AcOEt/EtOH/H₂O: 9/0.8/0.2) to give rise to the two cryptophanes **33** and **34** as a white solids.

Alternate procedure in order to obtain only cryptophane 34: After the precipitation with the conc. HCl solution, the mixture is stirred for 2 hours at room temperature. The same purification steps then lead to cryptophane **34** (246 mg, 73%) as the only product.

Cryptophane 33:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.69 (s, 1 H), 8.55 (s, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 8.21 (s, 1 H), 8.13 (s, 1 H), 7.83 (s, 1 H), 6.77 (s, 1 H), 6.73 (s, 1 H), 6.67 (m, 6 H), 6.65 (s, 1 H), 6.62 (s, 1 H), 6.58 (s, 1 H), 6.55 (s, 1 H), 4.65 (m, 1 H), 4.48-3.38 (m, 25 H), 3.24-3.18 (m, 6 H), 1.78-1.41 (m, 6 H).

¹³C NMR (126.7 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ 146.48, 146.41, 145.83, 145.64, 145.43 (3 C), 144.48, 144.32 (3 C), 143.95, 133.82 (2 C), 133.48, 133.40, 132.30, 130.90, 130.76, 130.35, 130.23, 129.61, 129.18, 129.07, 120.35, 120.01, 118.69, 118.33, 118.01 (2 C), 117.93 (2 C), 117.33 (2 C), 117.27, 116.60, 98.19, 77.50, 70.21, 69.38, 68.61, 68.50, 68.28, 68.15, 66.28, 61.41, 61.20, 35.03 (2 C), 34.79 (4 C), 30.17, 24.97, 19.14.

HRMS (ESI, [M+Na]⁺) calcd. for C₅₆H₅₆NaO₁₅ 991.3511 found. 991.3488.

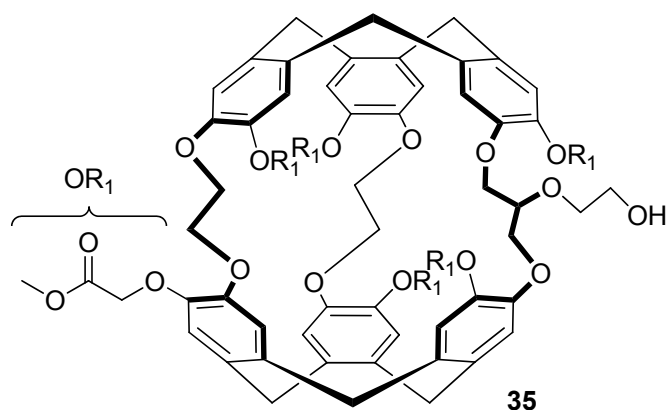
Partie expérimentale

Cryptophane 34:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.69 (s, 1 H), 8.55 (s, 1 H), 8.40 (s, 1 H), 8.21 (s, 1 H), 8.17 (s, 1 H), 7.93 (s, 1 H), 6.77 (s, 1 H), 6.73 (s, 1 H), 6.67 (m, 4 H), 6.66 (s, 1 H), 6.65 (s, 1 H), 6.64 (s, 1 H), 6.62 (s, 1 H), 6.57 (s, 1 H), 6.56 (s, 1 H), 4.72 (b, 1 H), 4.49-4.37 (m, 6 H), 4.25-4.05 (m, 8 H), 4.04-3.64 (m, 7 H), 3.62-3.57 (m, 2 H), 3.26-3.15 (m, 6 H).

¹³C NMR (126.7 MHz, DMSO-d₆, 25°C) δ 146.56, 146.48, 145.86, 145.73, 145.46 (2 C), 145.24, 144.37 (2 C), 144.32, 144.121, 143.94, 133.87, 133.59, 133.54, 132.42, 133.32, 130.91, 130.83, 130.48, 130.40, 130.31, 129.51, 129.06, 120.47, 120.11, 118.69, 118.21, 118.10, 117.94 (3 C), 117.44 (2 C), 117.31, 116.58, 77.28, 71.04, 70.11, 69.59, 68.46, 68.28, 68.17 (2 C), 60.50, 35.11, 35.05, 34.88, 34.83 (2 C), 34.76.

HRMS (ESI, [M+Na]⁺) calcd. for C₅₁H₄₈NaO₁₄ 907.2936 found. 907.2925

(rac)-Cryptophane 35

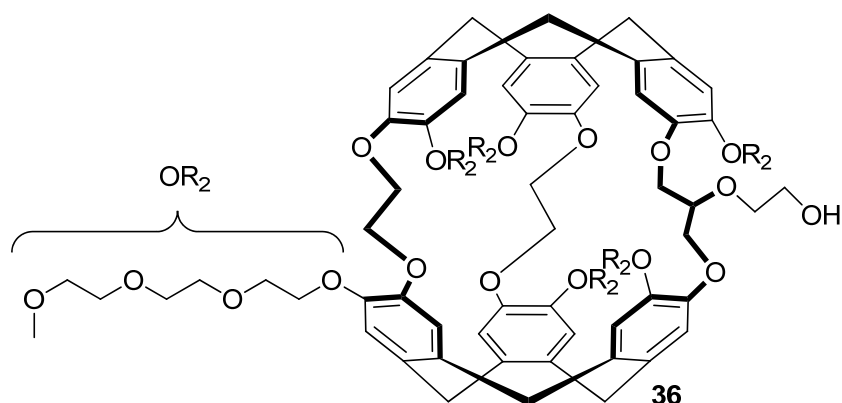
Methylbromoacetate (140 mg, 0.158 mmol) is added to a stirred solution of potassium carbonate (156 mg, 1.13 mmol) and cryptophane **34** in DMF (15 mL). The mixture is stirred at room temperature for 36 hours. Mass spectrometry is used to monitor the reaction. After completion, the reaction is stopped by adding water and ethyl acetate. The aqueous phase is extracted by ethyl acetate and the combined organic layers are washed by water and brine then dried over Na₂SO₄. Filtration and evaporation of the solvents under reduced pressure lead to a brown oil that is purified by column chromatography on silica gel (CHCl₃/acetone: 7/3). Evaporation of the solvents gives the cryptophane **35** (155 mg, 70%) as a white solid.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.82 (s, 1 H), 6.80 (s, 1 H), 6.77 (m, 3 H), 6.75 (s, 1 H), 6.74 (s, 1 H), 6.70 (s, 1 H), 6.68 (s, 1 H), 6.63 (s, 1 H), 6.61 (s, 1 H), 6.59 (s, 1 H), 4.67-3.90 (m, 35 H), 3.84 (s, 6 H), 3.83 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.40-3.35 (m, 6 H).

¹³C NMR (126.7 MHz, CDCl₃, 25°C) δ 170.34, 170.15, 170.08 (3 C), 170.02, 148.29, 148.05, 147.98 (2 C), 147.85, 147.75, 147.72, 147.64 (3 C), 146.80, 146.75, 134.87, 134.68, 134.05, 133.76, 133.72, 133.70, 133.65, 133.43, 133.38 (2 C), 132.79, 132.52, 121.39, 121.08, 120.58, 120.23, 120.15, 119.64, 119.23, 118.68, 117.95, 117.35, 115.98, 115.62, 77.85, 70.32, 69.81, 69.73, 69.58, 69.11, 69.00, 68.02 (2 C), 67.91, 67.87, 67.60, 67.54, 67.03, 66.88, 52.38, 52.28 (2 C), 52.24 (2 C), 52.12, 36.57, 36.43, 36.18 (3 C), 36.10.

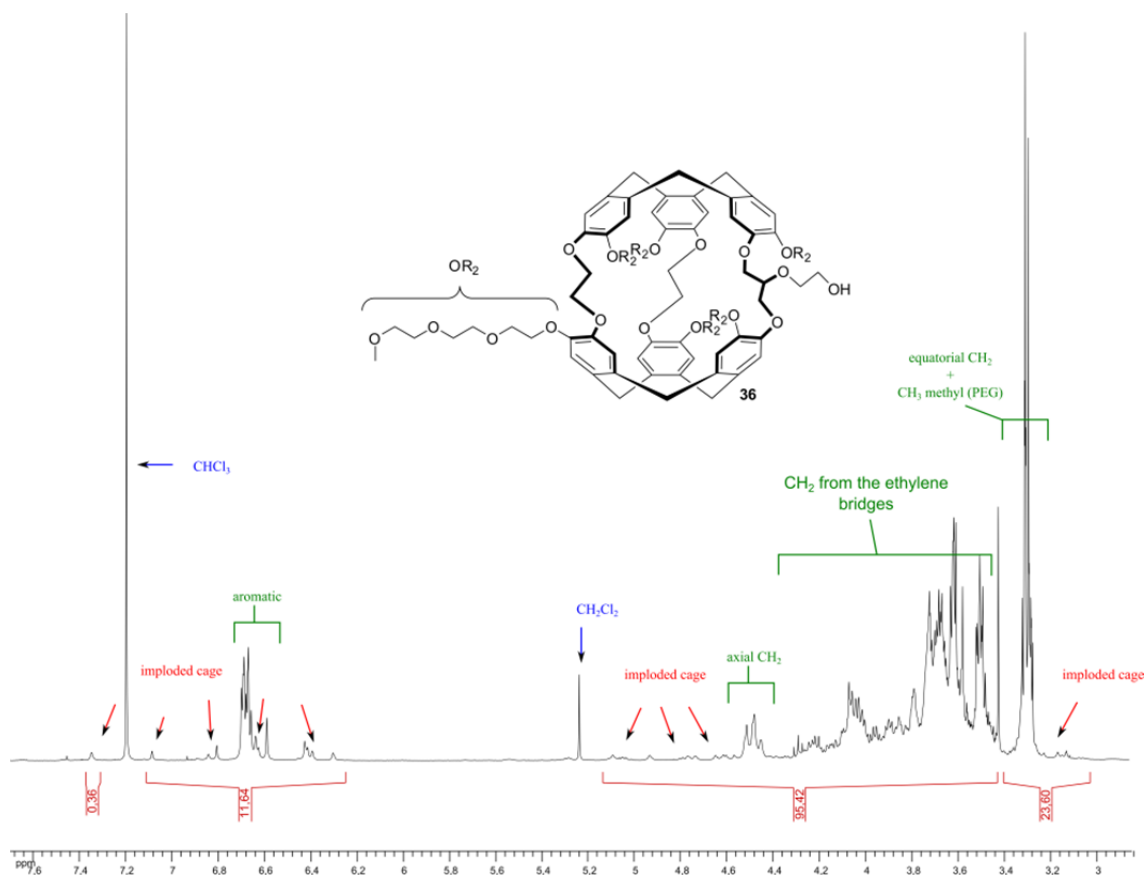
HRMS (ESI, [M+Na]⁺) calcd. for C₆₉H₇₂NaO₂₆ : 1339.4210 found. 1339.4216

(*rac*)-Cryptophane **36**



Potassium carbonate (285.41 mg, 2.07 mmol) is added to a stirred solution of cryptophane **34** (100 mg, 0.113 mmol) in DMF (10 mL). The mixture is heated to 60°C then tosylate derivative **26** (0.656 g, 2.06 mmol) is added. The mixture is heated at 60°C and stirred under an argon atmosphere for 36 hours. Evaporation of the solvents under reduced pressure gives a dark brown oil that is purified by column chromatography on silica gel (AcOEt/EtOH/water: 8/2/0.5). Evaporation of the solvents leads to the cryptophane **36** (130 mg, 65%) as light yellow oil.

The NMR spectra reveal that 25% of the compound **36** is imploded. This complicates the analysis and the description of the NMR Data. In the following ¹H NMR spectrum, the protons belonging to the imploded conformer will be identified with *.



^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.39 (s, 1 H*), 7.13 (s, 1 H*), 6.88 (s, 1 H*), (6.85, s, 1 H*), 6.74-6.63 (m, 12 H + 2 H*), 6.46-6.43 (m, 4 H*), 6.34 (s, 1 H*), 5.59-4.58 (multiple signals for H*), 4.58-4.48 (m, 6 H), 4.47-3.43 (m, 89 H + multiple H*), 3.40-3.29 (m, 24 H + multiple H*), 3.28-3.11 (m, 2 H*)

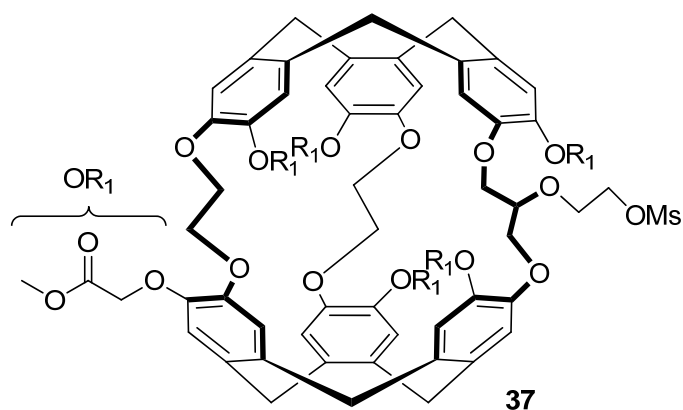
For the sake of clarity, we'll only describe the main peaks in the following ^{13}C NMR spectrum.

^{13}C NMR (126.7 MHz, CDCl_3 , 25°C) δ 147.69, 147.59, 147.57, 147.53, 147.34, 146.97, 146.64, 146.59, 146.30, 146.27, 146.22, 146.09, 132.97, 132.82, 132.77, 132.40, 132.22, 131.93, 131.86, 131.81, 131.49, 131.25, 131.08, 130.45, 120.37, 120.05 (2 C), 119.81, 117.26, 117.06, 116.87, 116.86, 116.59, 116.56, 116.51, 115.43, 77.09, 70.96-67.78 (overlapping signals for the CH_2 from the PEG chains and the cryptophane linkers), 60.79 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 58.02 (4 C), 57.98 (2 C), 35.34, 35.29, 35.12 (2 C), 35.09 (2 C).

HRMS (ESI, $[\text{M}+2\text{Na}]^{++}$) calcd. for $\text{C}_{93}\text{H}_{132}\text{Na}_2\text{O}_{32}$: 903.4243 found. 903.4253

(ESI, $[\text{M}+\text{Na}]^+$) calcd. for $\text{C}_{93}\text{H}_{132}\text{NaO}_{32}$: 1783.8594 found. 1783.8507

(rac)-Cryptophane 37



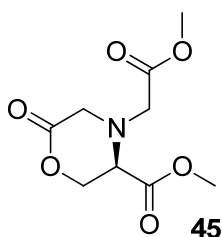
Pyridine (100 μ L, 3.6 mmol) and mesyl chloride (54 μ L, 0.71 mmol) are added to a stirred solution of cryptophane **35** (31 mg, 24 μ mol) in dry DCM (6 mL) under an argon atmosphere. The mixture is refluxed for 48 hours. Methanol (10 mL) is added to the solution. Evaporation of the solvents gives rise to a dark brown oil. Water and CH_2Cl_2 are added and the aqueous phase is extracted three times with CH_2Cl_2 . The combined organic layers are washed with water and with brine then dried over Na_2SO_4 . Filtration and evaporation of the solvents under reduced pressure gives a yellow oil that is purified by column chromatography on silica gel (CHCl_3 /acetone: 7/3). Evaporation of the solvents gives the cryptophane **37** (20 mg, 65%) as a white solid.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6.82 (s, 1 H), 6.81 (s, 1 H), 6.79 (s, 1 H), 6.78 (s, 1 H), 6.75 (s, 1 H), 6.74 (s, 1 H), 6.73 (s, 1 H), 6.68 (s, 1 H), 6.67 (s, 1 H), 6.64 (s, 1 H), 6.62 (s, 1 H), 6.58 (s, 1 H), 4.69–3.90 (m, 35 H), 3.84 (s, 6 H), 3.81 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.41–3.35 (m, 6 H), 3.15 (s, 3 H).

^{13}C NMR (126.7 MHz, CDCl_3 , 25°C) δ 170.09 (2 C), 169.98 (2 C), 169.96, 169.87, 148.01, 147.93, 147.85, 147.81, 147.61 (2 C), 147.57 (2 C), 147.51 (2 C), 147.14, 146.94, 134.79, 134.68, 133.84, 133.75, 133.74, 133.56, 133.50 (2 C), 133.39, 133.24, 133.16, 132.71, 121.16, 120.80, 120.25, 120.11, 119.51, 119.48, 118.60, 117.97, 117.61, 117.58, 117.02, 116.53, 78.31, 70.18, 69.72, 69.58, 69.51, 68.94, 68.74, 68.57, 68.29, 67.94 (2 C), 67.45, 67.16, 67.11 (2 C), 52.34, 52.28, 52.26, 52.23, 52.20 (2 C), 37.89, 36.44, 36.28, 36.19 (2 C), 36.16 (2 C).

HRMS (ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+$) calcd. for $\text{C}_{70}\text{H}_{75}\text{O}_{28}\text{S}$: 1395.4160 found. 1395.4145

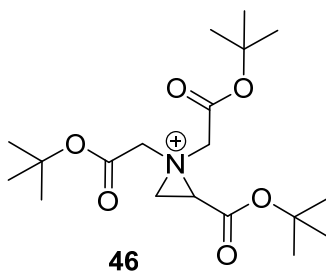
(ESI, $[\text{M}+\text{Na}]^+$) calcd. for $\text{C}_{70}\text{H}_{74}\text{NaO}_{28}\text{S}$: 1417.3980 found. 1417.3952

(R)-lactone 45

Diisopropylethylamine (6.56 mL, 39 mmol) is added to a stirred solution of D-serine methyl ester hydrochloride (1g, 6.4 mmol) in acetonitrile (40 mL). Methylbromoacetate (2.42 mL, 25.6 mmol) was added dropwise and the mixture was refluxed for 50 hours. The solvents are evaporated under reduced pressure, 80 mL of ethyl acetate are added and the solvents are evaporated again. The resulting oil is identified as the compound **45** (817 mg, crude yield 55%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 4.63 (m, 2 H), 3.86 (dd, 1 H, J= 3.30 Hz and J=3.7 Hz), 3.81 (s, 2 H), 3.76 (s, 3 H), 3.72 (s, 3 H), 3.68 (d, 1 H, J=17.7 Hz), 3.49 (d, 1 H, J=17.7 Hz).

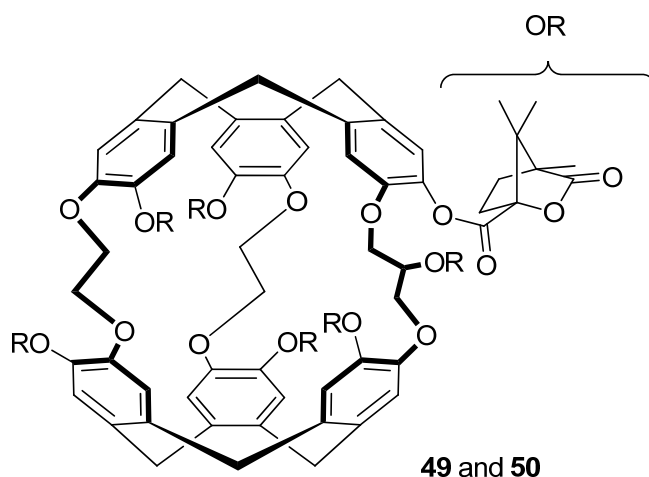
Aziridinium **46**



Mesyl chloride (1.15 mL, 14.9 mmol) is added to a stirred solution of compound **44** (580 mg, 1.49 mmol) and pyridine (13 mL, 149 mmol) in DCM (10 mL). The mixture is refluxed overnight and the reaction is stopped by adding MeOH (10 mL). The solvents are removed under reduced pressure then ethyl acetate and water are added. The aqueous phase is extracted by ethyl acetate and the combined organic layers are washed with water and brine then dried over Na₂SO₄. Evaporation of the solvents leads to a clear oil that is purified by column chromatography (gradient Pentane/Ethyl acetate) to afford compound **46** as a clear oil (388 mg, 70%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.23 (dd, 1 H, J=8.4 Hz and J= 6,1 Hz), 3.45 (s, 2 H), 3.44 (s, 2 H), 3.28 (dd, 1H, J=14.3 Hz and J=8.4 Hz), 3.09 (dd, 1 H, J=14.3 Hz and J=6.1 Hz), 1.45 (s, 9H), 1.42 (s, 18H).

¹³C NMR (126.7 MHz, CDCl₃, 25°C) δ 170.57 (2 C), 168.44, 82.53, 81.29 (2 C), 59.11, 56.98 (2 C), 55.67, 28.24 (6 C), 27.89 (3 C).

Cryptophanes 49 and 50 (two diastereomers)

A solution of 1*S*-(-)-camphanoyl chloride (3.177 g, 14.66 mmol) in CH₂Cl₂ (4 mL) is added dropwise to a stirred solution of cryptophane **1** (391 mg, 0.47 mmol), and triethylamine (2 mL, 14.66 mmol) in CH₂Cl₂ (15 mL). A catalytic amount of DMAP is then added and the mixture is refluxed under argon for 3 days. The reaction is stopped by addition of CH₂Cl₂ and water and the aqueous phase is extracted three times with CH₂Cl₂. The combined organic layers are washed with water and with brine then dried over Na₂SO₄. Filtration and evaporation of the solvents under reduced pressure gives a brown oil that is purified by column chromatography on silica gel (CHCl₃/Et₂O: 6/4). A fraction containing the mixture of the two diastereomers is collected and evaporated to give a white solid (550 mg). Part of this mixture is purified by preparative TLC (CHCl₃/Et₂O/EtOH: 5/5/0.5). The two diastereomers are collected and isolated as white powders. However the purity of the first diastereomer is not perfect at this time and though a high resolution mass spectrum confirms its presence in large majority, the NMR spectrum recorded won't be described here.

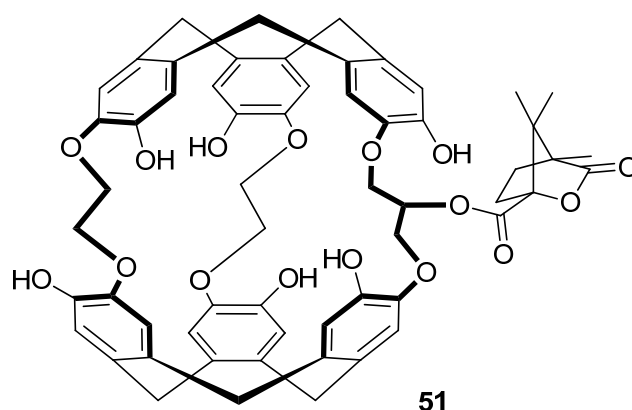
Characterizations for the second diastereomer.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃, 25°C) δ 7.55 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.57 (s, 1H), 6.10 (s, 1H), 5.60-5.57 (m, 1H), 4.88-3.52 (m, 25 H), 2.54-1.71 (m, 28H), 1.26-0.89 (m, 63H).

¹³C NMR (126.7 MHz, CDCl₃, 25°C) δ = 178.2 (2 C), 178.1, 178.0 (2 C), 177.9, 177.6, 167.2, 166.7, 166.6, 166.0, 165.5 (2 C), 164.7, 148.8, 148.1, 147.1, 146.7, 146.2, 145.3, 140.0, 139.9, 139.4, 139.1, 138.8, 138.7, 138.0, 137.8, 137.4, 137.2, 136.5, 134.3, 131.9, 131.4, 130.6, 125.3, 125.0, 124.8, 123.8, 123.3, 122.4, 122.1, 120.8, 119.8, 119.2, 115.5, 113.7, 91.2, 91.0, 90.9 (3 C), 90.8, 90.7, 70.1, 70.0, 68.3, 66.3, 63.9, 55.4, 55.2, 55.0 (2 C), 54.9, 54.7 (2 C), 54.5, 53.5, 39.5, 36.8, 36.5, 36.3, 36.1, 34.8, 33.0, 31.4, 31.3, 31.0, 30.8, 30.0, 29.3, 28.9, 28.8, 28.6, (overlapping signals for the CH₂ of the camphane moieties), 17.5, 17.3, 16.8, 16.6, 16.5, 16.5, 15.7, 9.9, 9.8, 9.7

HRMS (ESI, [M+Na]⁺) calcd. for C₁₁₉H₁₂₈NaO₃₄ 2123.8179 found. 2123.8178

Cryptophanes **51**

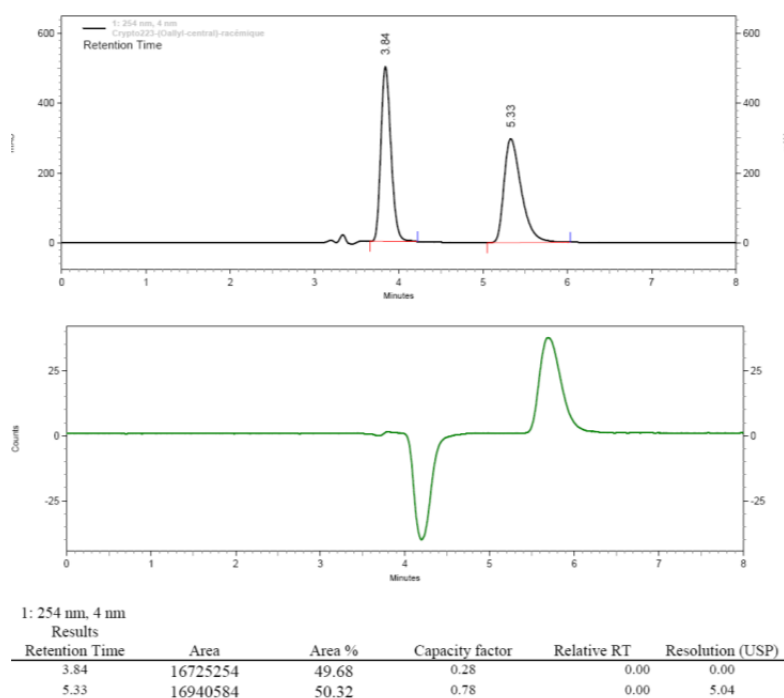


A solution of cryptophane **50** (second diastereomer, 120 mg, 57.1 μmol) in THF (2 mL) is cooled to 0°C. Lithium aluminum hydride (26 mg, 0.69 mmol) is then added and the mixture is stirred overnight at room temperature under argon. The next day the same amount of lithium aluminum hydride is added and the mixture is stirred for one more day. The reaction was quenched by dropwise addition of ethyl acetate, and water. The aqueous phase is extracted by ethyl acetate and the combined organic layers are washed several times by HCl 10% and brine then dried over Na_2SO_4 . Filtration followed by evaporation of the solvent under vacuum leads to an off white solid. This crude product was purified by column chromatography on silica gel (ethyl acetate) to give a white solid 30 mg for which the preliminary NMR analysis showed the presence of one camphanic moiety.

Analytical chiral HPLC separation for compound cryptophane 22

- The sample is dissolved in chloroform, injected on the chiral column, detected with an UV detector at 254 nm and circular dichroism detector at 254 nm. The flow-rate is 1 ml/min.

Column	Mobile Phase	t1	t2
Chiralpak ID	EtOH/CH ₂ Cl ₂ 20/80	3.84 (-)	5.33 (+)



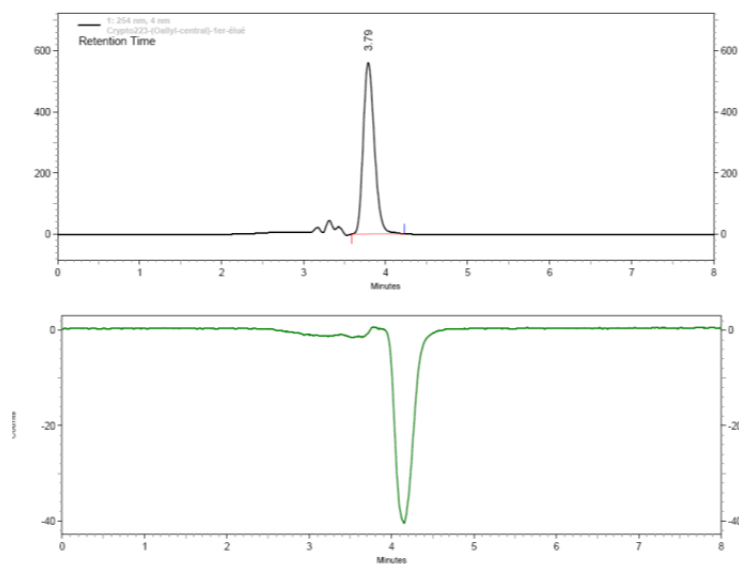
Semi-preparative separation for compound 22:

- Sample preparation: About 550 mg of compound **22** are dissolved in 15 mL of dichloromethane.
- Chromatographic conditions: Chiralpak ID (250 x 10 mm), ethanol/dichloromethane (2/8) as mobile phase, flow-rate = 5 ml/min, UV detection at 254 nm.
- Injections (stacked): 125 times 120 μ L, every 3 minutes.
- Collection: the first eluted enantiomer is collected between 3.3 and 4 minutes and the second one between 4.4 and 5.6 minutes.
- First fraction: 270 mg of the first eluted on Chiralpak ID ((-)-enantiomer on Jasco CD-1595 circular dichroism detector at 254 nm) with ee > 99.5%
- Second fraction: 270 mg of the second eluted on Chiralpak ID ((+)-enantiomer on Jasco CD-1595 circular dichroism detector at 254 nm) with ee > 99.5%

Partie expérimentale

Chromatograms of the collected enantiomers:

- First fraction ((-)-enantiomer on Jasco CD-1595 circular dichroism detector at 254 nm), first eluted on Chiralpak ID.

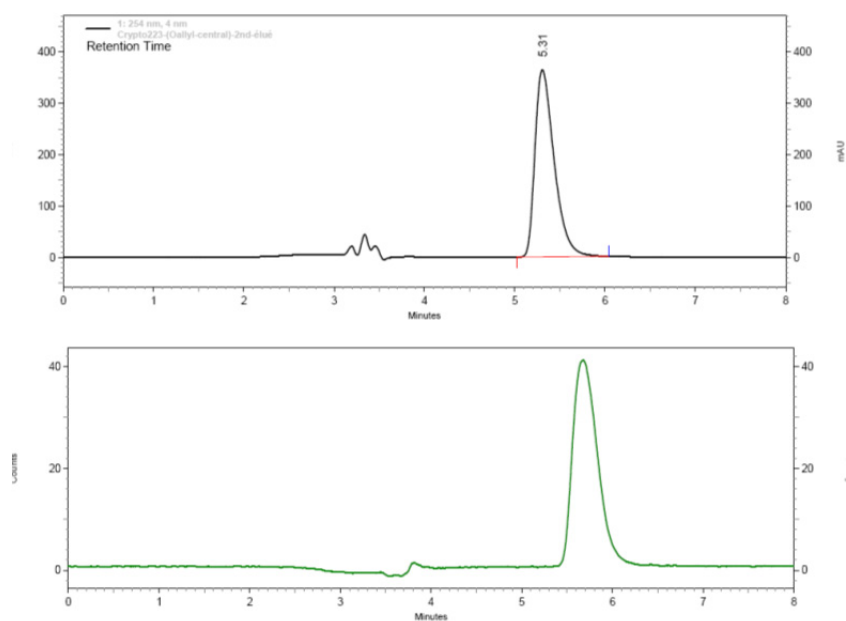


1: 254 nm, 4 nm

Results

Retention Time	Area	Area %	Capacity factor	Relative RT	Resolution (USP)
3.79	21178455	100.00	0.26	0.00	0.00

- Second fraction ((+)-enantiomer on Jasco CD-1595 circular dichroism detector at 254 nm), second eluted on Chiralpak ID.

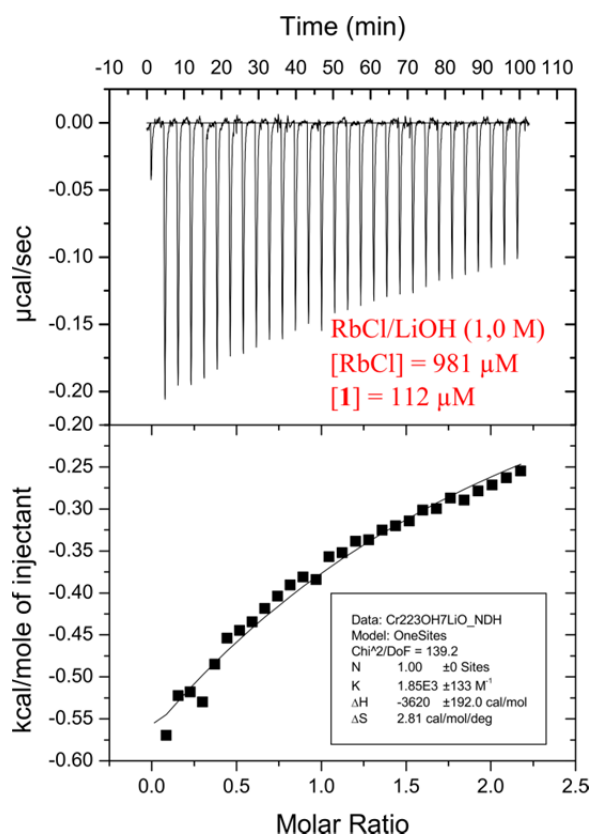
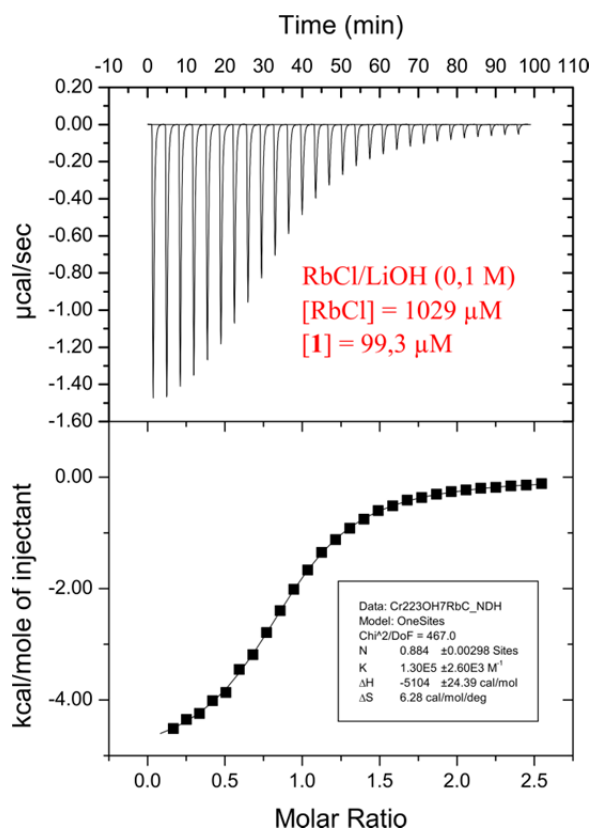
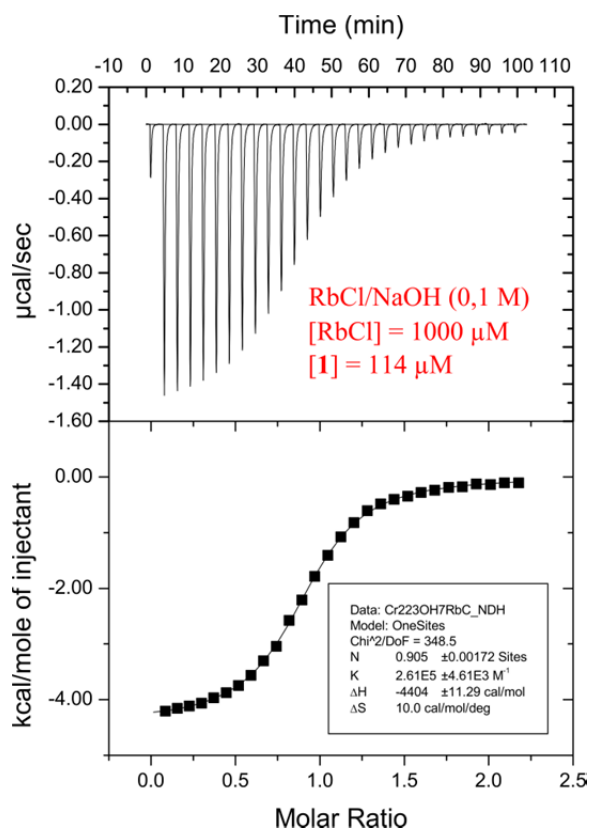


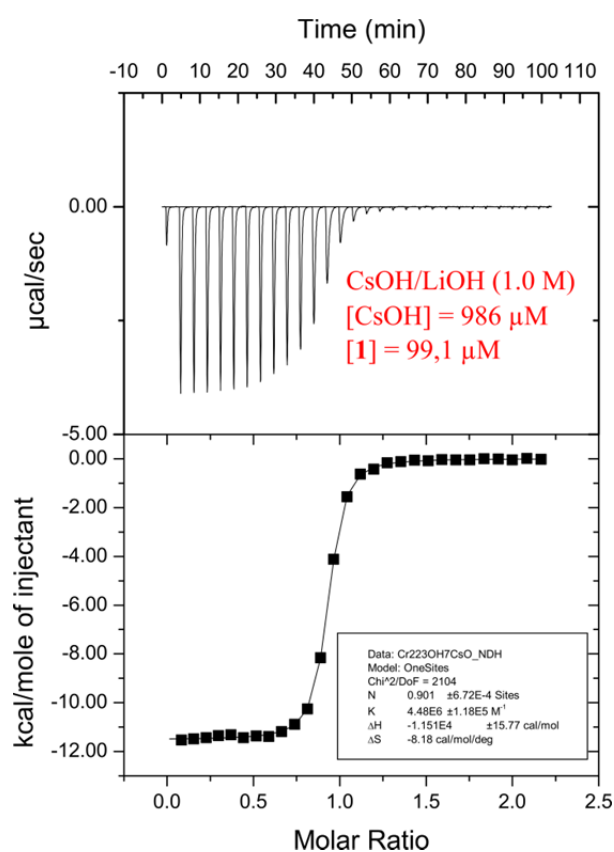
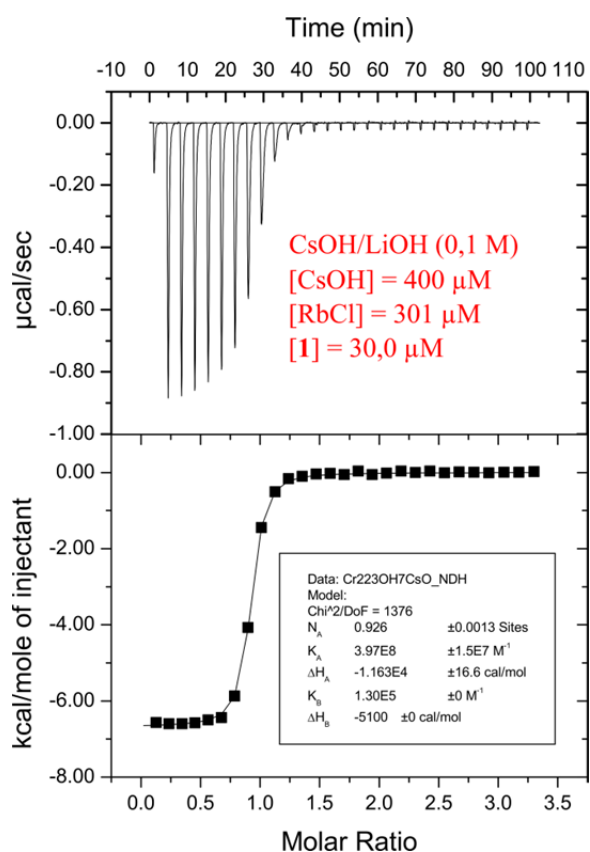
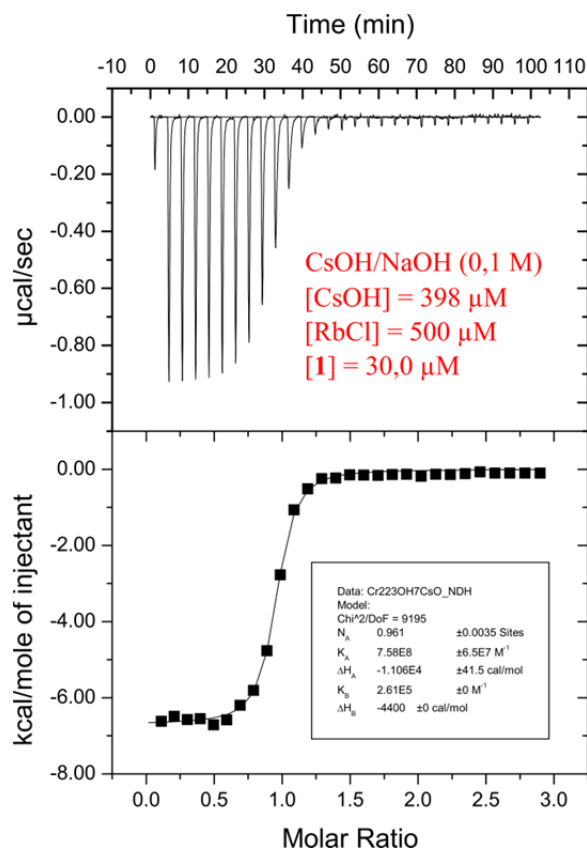
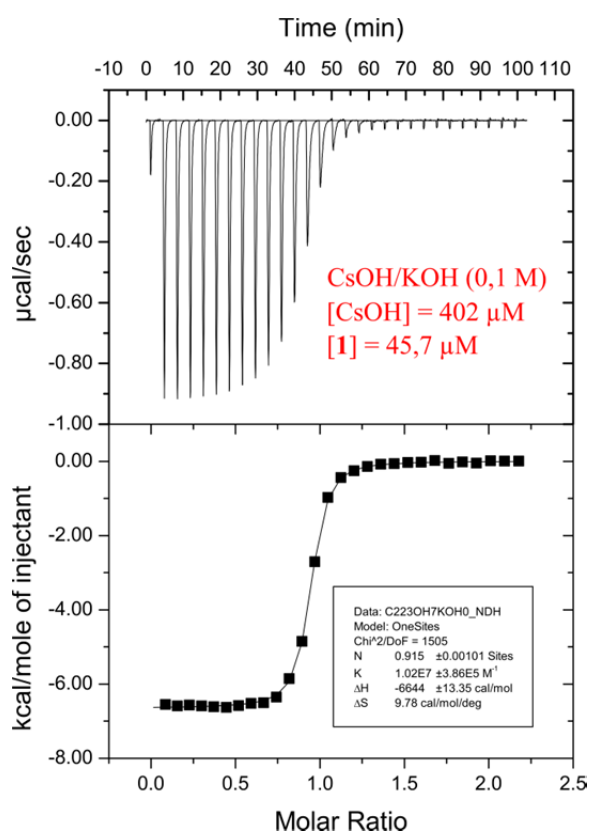
1: 254 nm, 4 nm

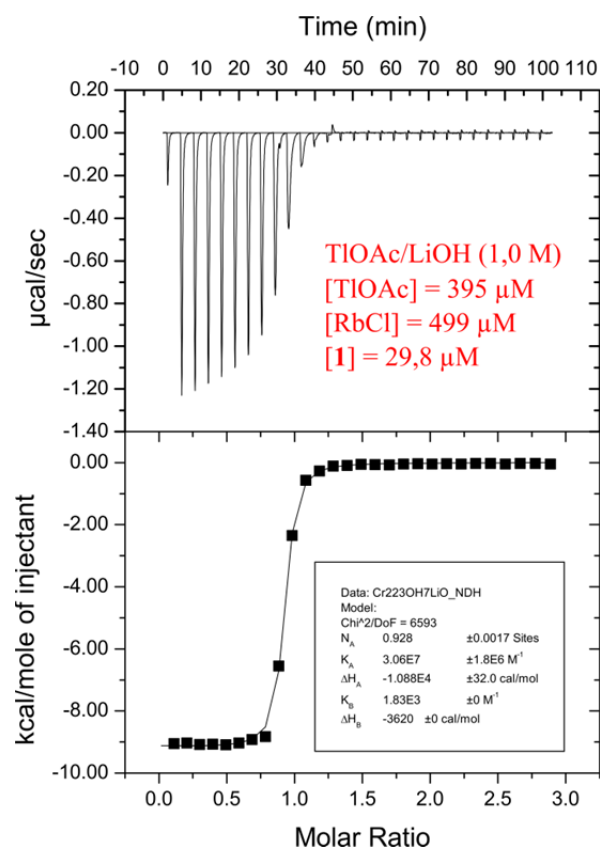
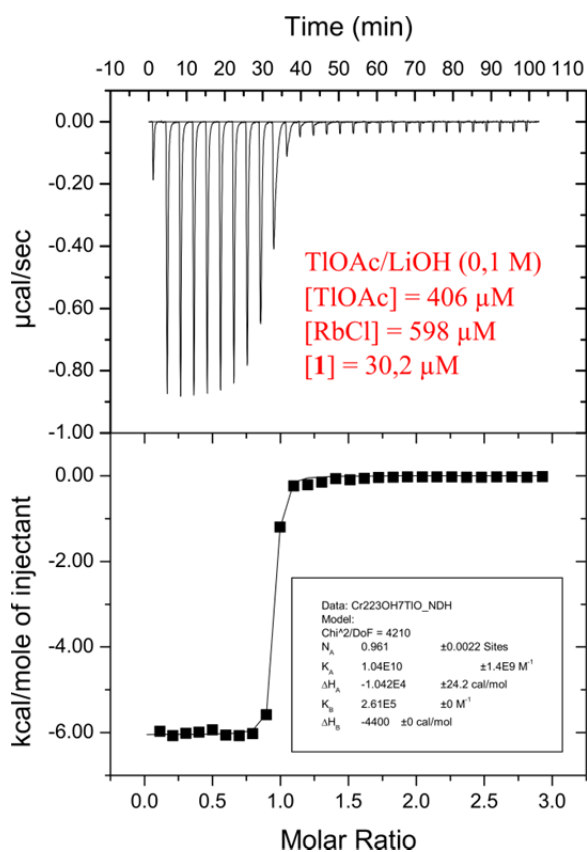
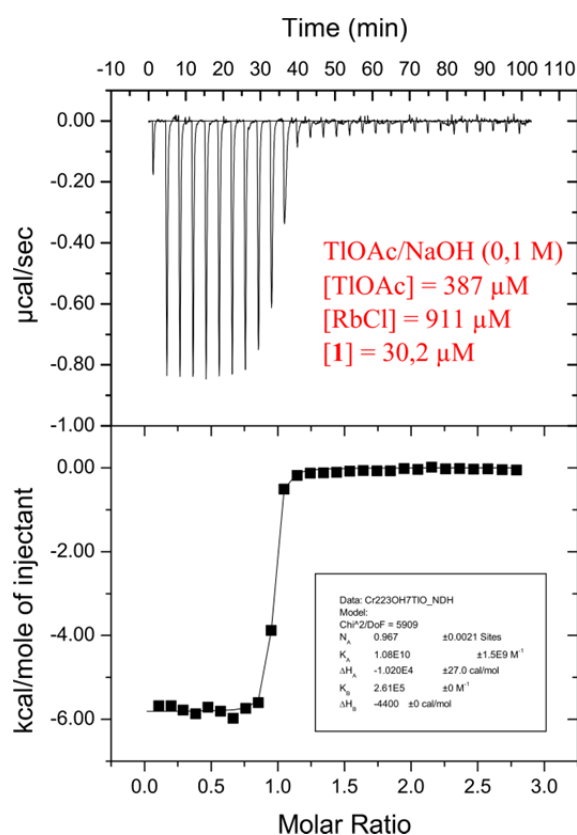
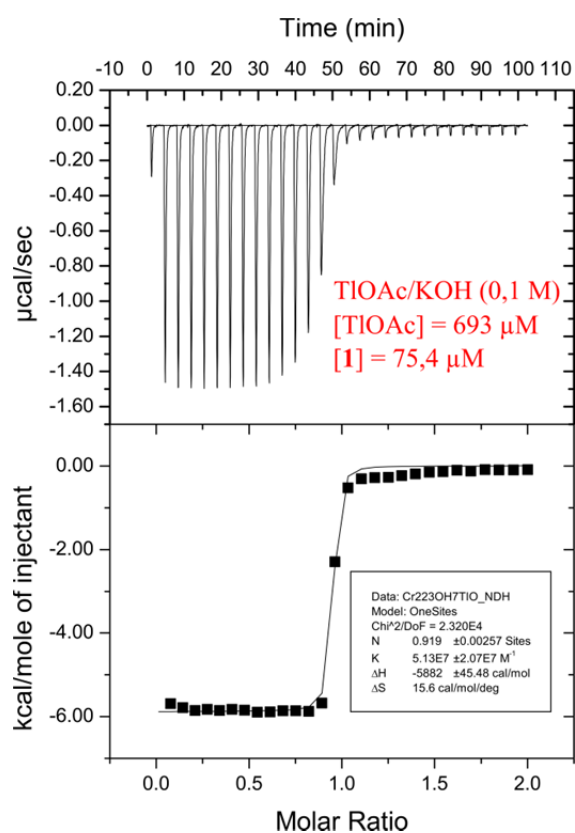
Results

Retention Time	Area	Area %	Capacity factor	Relative RT	Resolution (USP)
5.31	21551016	100.00	0.77	0.00	0.00

ITC titration plots







Références

- (1) Spence, M. M.; Rubin, S. M.; Dimitrov, I. E.; Ruiz, E. J.; Wemmer, D. E.; Pines, A.; Yao, S. Q.; Tian, F.; Schultz, P. G. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2001**, 98, 10654.
- (2) Lehn, J. M. *Pure Appl. Chem.* **1978**, 50, 871.
- (3) Lehn, J.-M. *La chimie supramoléculaire*; De Boeck Université, 1997.
- (4) Pedersen, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 2495.
- (5) Pedersen, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 7017.
- (6) Jonathan W. Steed, J. L. A. *Supramolecular Chemistry*; Wiley, 2009.
- (7) Dougherty, D. A. *Acc. Chem. Res.* **2013**, 46, 885.
- (8) Chifotides, H. T.; Dunbar, K. R. *Acc. Chem. Res.* **2013**, 46, 894.
- (9) Riley, K. E.; Hobza, P. *Acc. Chem. Res.* **2013**, 46, 927.
- (10) Fischer, E. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1894**, 27, 2985.
- (11) Eric V. Anslyn, D. A. D. *Modern Physical Organic Chemistry*; University Science Books, 2006.
- (12) Mecozzi, S.; Rebek, J. J. *Chemistry – A European Journal* **1998**, 4, 1016.
- (13) Perraud, O.; Robert, V.; Gornitzka, H.; Martinez, A.; Dutasta, J.-P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 504.
- (14) Schneider, H.-J. *International Journal of Molecular Sciences* **2015**, 16, 6694.
- (15) Cram, D. J.; Cram, J. M. *Container molecules and their guests*; Royal Society of Chemistry, 1994.
- (16) Dietrich, B.; Lehn, J. M.; Sauvage, J. P. *Tetrahedron Lett.* **1969**, 10, 2885.
- (17) Dietrich, B.; Lehn, J. M.; Sauvage, J. P. *Tetrahedron Lett.* **1969**, 10, 2889.
- (18) Cram, D. J.; Kaneda, T.; Helgeson, R. C.; Lein, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 6752.
- (19) Szejtli, J. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1743.
- (20) Guieu, S.; Sollogoub, M. In *Modern Synthetic Methods in Carbohydrate Chemistry*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: 2013, p 241.
- (21) Wanda Sliwa; Kozłowski, C. *Calixarenes and Resorcinarenes Synthesis, Properties and Applications*; John Wiley&Sons, 2009.
- (22) Brotin, T.; Dutasta, J.-P. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 88.
- (23) Pinalli, R.; Suman, M.; Dalcanele, E. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2004, 451.
- (24) Lagona, J.; Mukhopadhyay, P.; Chakrabarti, S.; Isaacs, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 4844.
- (25) Canceill, J.; Collet, A.; Gabard, J.; Kotzyba-Hibert, F.; Lehn, J.-M. *Helv. Chim. Acta* **1982**, 65, 1894.
- (26) Gabard, J.; Collet, A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 1137.
- (27) Collet, A.; Crassous, J.; Dutasta, J.-P.; Guy, L. *Molécules chirales : stéréochimie et propriétés*; Les Ulis (Essonne) . EDP sciences . Paris . CNRS éditions: Les Ulis (Essonne) Paris, 2006.
- (28) Collet, A.; Gabard, J.; Jacques, J.; Cesario, M.; Guilhem, J.; Pascard, C. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1981**, 1630.
- (29) Holman, K. T. In *Encyclopedia of Supramolecular Chemistry*; Jerry L. Atwood, J. W. S., Ed.; CRC Press: 2004; Vol. 1.
- (30) Collet, A.; Gabard, J. *J. Org. Chem* **1980**, 45, 5400.
- (31) Zimmermann, H.; Tolstoy, P.; Limbach, H.-H.; Poupko, R.; Luz, Z. *The Journal of Physical Chemistry B* **2004**, 108, 18772.
- (32) Haberhauer, G.; Woitschetzki, S.; Bandmann, H. *Nat Commun* **2014**, 5.
- (33) Mough, S. T.; Goeltz, J. C.; Holman, K. T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 5631.
- (34) Huber, G.; Brotin, T.; Dubois, L.; Desvaux, H.; Dutasta, J.-P.; Berthault, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 6239.
- (35) Cram, D. J.; Tanner, M. E.; Keipert, S. J.; Knobler, C. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 8909.
- (36) Fogarty, H. A.; Berthault, P.; Brotin, T.; Huber, G.; Desvaux, H.; Dutasta, J.-P. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 10332.

- (37) Joseph, A. I.; El-Ayle, G.; Boutin, C.; Leonce, E.; Berthault, P.; Holman, K. T. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 15905.
- (38) Little, M. A.; Donkin, J.; Fisher, J.; Halcrow, M. A.; Loder, J.; Hardie, M. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 764.
- (39) Kotera, N.; Delacour, L.; Traoré, T.; Tassali, N.; Berthault, P.; Buisson, D.-A.; Dognon, J.-P.; Rousseau, B. *Org. Lett.* **2011**, 13, 2153.
- (40) Fairchild, R. M.; Joseph, A. I.; Holman, K. T.; Fogarty, H. A.; Brotin, T.; Dutasta, J.-P.; Boutin, C.; Huber, G.; Berthault, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 15505.
- (41) Delacour, L.; Kotera, N.; Traoré, T.; Garcia-Argote, S.; Puente, C.; Leteurtre, F.; Gravel, E.; Tassali, N.; Boutin, C.; Léonce, E.; Boulard, Y.; Berthault, P.; Rousseau, B. *Chemistry – A European Journal* **2013**, 19, 6089.
- (42) Jacobson, D. R.; Khan, N. S.; Collé, R.; Fitzgerald, R.; Laureano-Pérez, L.; Bai, Y.; Dmochowski, I. J. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2011**, 108, 10969.
- (43) Traore, T.; Clave, G.; Delacour, L.; Kotera, N.; Renard, P.-Y.; Romieu, A.; Berthault, P.; Boutin, C.; Tassali, N.; Rousseau, B. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 9702.
- (44) Tyagi, R.; Witte, C.; Haag, R.; Schröder, L. *Org. Lett.* **2014**, 16, 4436.
- (45) Collet, A.; Dutasta, J.-P.; Lozach, B.; Canceill, J. In *Supramolecular Chemistry I — Directed Synthesis and Molecular Recognition*; Springer Berlin Heidelberg: 1993; Vol. 165, p 103.
- (46) Collet, A.; Dutasta, J.-P.; Lozach, B. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1990**, 99, 617.
- (47) Akabori, S.; Takeda, M.; Miura, M. *Supramol. Chem.* **1999**, 10, 253.
- (48) Garel, L.; Vezin, H.; Dutasta, J.-P.; Collet, A. *Chem. Commun.* **1996**, 719.
- (49) Garel, L.; Dutasta, J. P.; Collet, A. *New J. Chem.* **1996**, 20, 1265.
- (50) Bartik, K.; Luhmer, M.; Dutasta, J.-P.; Collet, A.; Reisse, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 784.
- (51) Garel, L.; Lozach, B.; Dutasta, J. P.; Collet, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 11652.
- (52) Akabori, S.; Miura, M.; Takeda, M.; Yuzawa, S.; Habata, Y.; Ishii, T. *Supramol. Chem.* **1996**, 7, 187.
- (53) Fairchild, R. M.; Holman, K. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 16364.
- (54) Canceill, J.; Lacombe, L.; Collet, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 6993.
- (55) Soulard, P.; Asselin, P.; Cuisset, A.; Aviles Moreno, J. R.; Huet, T. R.; Petitprez, D.; Demaison, J.; Freedman, T. B.; Cao, X.; Nafie, L. A.; Crassous, J. *PCCP* **2006**, 8, 79.
- (56) Bouchet, A.; Brotin, T.; Linares, M.; Ågren, H.; Cavagnat, D.; Buffeteau, T. *J. Org. Chem* **2011**, 76, 4178.
- (57) Golman, K.; Olsson, L. E.; Axelsson, O.; Månsson, S.; Karlsson, M.; Petersson, J. S. *The British Journal of Radiology* **2003**, 76, S118.
- (58) Berthault, P.; Huber, G.; Desvaux, H. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2009**, 55, 35.
- (59) Desvaux, H.; Berthault, P. *CLEFS CEA* **2007**, 56, 56.
- (60) Albert, M. S.; Cates, G. D.; Driehuys, B.; Happer, W.; Saam, B.; Springer, C. S.; Wishnia, A. *Nature* **1994**, 370, 199.
- (61) Walkup, L. L.; Woods, J. C. *NMR Biomed.* **2014**, 27, 1429.
- (62) Kurhanewicz, J.; Vigneron, D. B.; Brindle, K.; Chekmenev, E. Y.; Comment, A.; Cunningham, C. H.; DeBerardinis, R. J.; Green, G. G.; Leach, M. O.; Rajan, S. S.; Rizi, R. R.; Ross, B. D.; Warren, W. S.; Malloy, C. R. *Neoplasia*, 13, 81.
- (63) Nikolaou, P.; Goodson, B. M.; Chekmenev, E. Y. *Chemistry – A European Journal* **2015**, 21, 3156.
- (64) Merritt, M. E.; Harrison, C.; Storey, C.; Jeffrey, F. M.; Sherry, A. D.; Malloy, C. R. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2007**, 104, 19773.
- (65) Day, S. E.; Kettunen, M. I.; Cherukuri, M. K.; Mitchell, J. B.; Lizak, M. J.; Morris, H. D.; Matsumoto, S.; Koretsky, A. P.; Brindle, K. M. *Magnetic Resonance in Medicine* **2011**, 65, 557.
- (66) Clatworthy, M. R.; Kettunen, M. I.; Hu, D.-E.; Mathews, R. J.; Witney, T. H.; Kennedy, B. W. C.; Bohndiek, S. E.; Gallagher, F. A.; Jarvis, L. B.; Smith, K. G. C.; Brindle, K. M. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2012**, 109, 13374.
- (67) Sriram, R.; Kurhanewicz, J.; Vigneron, D. B. *eMagRes* **2014**, 3, 1.

- (68) Colloc'h, N.; Sopkova-de Oliveira Santos, J.; Retailleau, P.; Vivarès, D.; Bonneté, F.; Langlois d'Estainto, B.; Gallois, B.; Brisson, A.; Risso, J.-J.; Lemaire, M.; Prangé, T.; Abraini, J. H. *Biophys. J.* **2007**, *92*, 217.
- (69) Mugler, J. P.; Altes, T. A. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* **2013**, *37*, 313.
- (70) Miller, K. W.; Reo, N. V.; Schoot Uiterkamp, A. J.; Stengle, D. P.; Stengle, T. R.; Williamson, K. L. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1981**, *78*, 4946.
- (71) Palaniappan, K. K.; Francis, M. B.; Pines, A.; Wemmer, D. E. *Isr. J. Chem.* **2014**, *54*, 104.
- (72) Goodson, B. M. *Journal of Magnetic Resonance* **2002**, *155*, 157.
- (73) Acosta, R. H.; Blümmler, P.; Münnemann, K.; Spiess, H.-W. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2012**, *66*, 40.
- (74) Lilburn, D. M. L.; Pavlovskaya, G. E.; Meersmann, T. *Journal of Magnetic Resonance* **2013**, *229*, 173.
- (75) Imai, H.; Kimura, A.; Fujiwara, H. *Anal. Sci.* **2014**, *30*, 157.
- (76) Swanson, S. D.; Rosen, M. S.; Agranoff, B. W.; Coulter, K. P.; Welsh, R. C.; Chupp, T. E. *Magnetic Resonance in Medicine* **1997**, *38*, 695.
- (77) Goodson, B. M.; Song, Y.-Q.; Taylor, R. E.; Schepkin, V. D.; Brennan, K. M.; Chingas, G. C.; Budinger, T. F.; Navon, G.; Pines, A. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1997**, *94*, 14725.
- (78) Patz, S.; Muradian, I.; Hrovat, M. I.; Ruset, I. C.; Topulos, G.; Covrig, S. D.; Frederick, E.; Hatabu, H.; Hersman, F. W.; Butler, J. P. *Academic Radiology* **2008**, *15*, 713.
- (79) Mugler, J. P.; Driehuys, B.; Brookeman, J. R.; Cates, G. D.; Berr, S. S.; Bryant, R. G.; Daniel, T. M.; De Lange, E. E.; Downs, J. H.; Erickson, C. J.; Happer, W.; Hinton, D. P.; Kassel, N. F.; Maier, T.; Phillips, C. D.; Saam, B. T.; Sauer, K. L.; Wagshul, M. E. *Magnetic Resonance in Medicine* **1997**, *37*, 809.
- (80) *Hyperpolarized xenon-129 magnetic resonance : concepts, production, techniques and applications*; Cambridge . Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2015.
- (81) Ward, K. M.; Aletras, A. H.; Balaban, R. S. *Journal of Magnetic Resonance* **2000**, *143*, 79.
- (82) Schröder, L.; Lowery, T. J.; Hilty, C.; Wemmer, D. E.; Pines, A. *Science* **2006**, *314*, 446.
- (83) Rudkevich, D. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 558.
- (84) Bartik, K.; Luhmer, M.; Heyes, S. J.; Ottinger, R.; Reisse, J. *Journal of Magnetic Resonance, Series B* **1995**, *109*, 164.
- (85) Fukutomi, J.; Adachi, Y.; Kaneko, A.; Kimura, A.; Fujiwara, H. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* **2007**, *58*, 115.
- (86) Kim, B. S.; Ko, Y. H.; Kim, Y.; Lee, H. J.; Selvapalam, N.; Lee, H. C.; Kim, K. *Chem. Commun.* **2008**, 2756.
- (87) Wang, Y.; Dmochowski, I. J. *Chem. Commun.* **2015**.
- (88) Huber, G.; Beguin, L.; Desvaux, H.; Brotin, T.; Fogarty, H. A.; Dutasta, J.-P.; Berthault, P. *The Journal of Physical Chemistry A* **2008**, *112*, 11363.
- (89) Brotin, T.; Dutasta, J.-P. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, *2003*, 973.
- (90) Hill, P. A.; Wei, Q.; Troxler, T.; Dmochowski, I. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3069.
- (91) Spence, M. M.; Ruiz, E. J.; Rubin, S. M.; Lowery, T. J.; Winssinger, N.; Schultz, P. G.; Wemmer, D. E.; Pines, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15287.
- (92) Lowery, T. J.; Garcia, S.; Chavez, L.; Ruiz, E. J.; Wu, T.; Brotin, T.; Dutasta, J.-P.; King, D. S.; Schultz, P. G.; Pines, A.; Wemmer, D. E. *ChemBioChem* **2006**, *7*, 65.
- (93) Hilty, C.; Lowery, T. J.; Wemmer, D. E.; Pines, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 70.
- (94) Schilling, F.; Schröder, L.; Palaniappan, K. K.; Zapf, S.; Wemmer, D. E.; Pines, A. *ChemPhysChem* **2010**, *11*, 3529.
- (95) Berthault, P.; Desvaux, H.; Wendlinger, T.; Gyejacquot, M.; Stopin, A.; Brotin, T.; Dutasta, J.-P.; Boulard, Y. *Chemistry – A European Journal* **2010**, *16*, 12941.
- (96) Roy, V.; Brotin, T.; Dutasta, J.-P.; Charles, M.-H.; Delair, T.; Mallet, F.; Huber, G.; Desvaux, H.; Boulard, Y.; Berthault, P. *ChemPhysChem* **2007**, *8*, 2082.
- (97) Wei, Q.; Seward, G. K.; Hill, P. A.; Patton, B.; Dimitrov, I. E.; Kuzma, N. N.; Dmochowski, I. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13274.
- (98) Aaron, J. A.; Chambers, J. M.; Jude, K. M.; Di Costanzo, L.; Dmochowski, I. J.; Christianson, D. W. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6942.

- (99) Chambers, J. M.; Hill, P. A.; Aaron, J. A.; Han, Z.; Christianson, D. W.; Kuzma, N. N.; Dmochowski, I. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 563.
- (100) Taratula, O.; Bai, Y.; D'Antonio, E. L.; Dmochowski, I. J. *Supramol. Chem.* **2014**, *27*, 65.
- (101) Garimella, P. D.; Meldrum, T.; Witus, L. S.; Smith, M.; Bajaj, V. S.; Wemmer, D. E.; Francis, M. B.; Pines, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 164.
- (102) Kotera, N.; Tassali, N.; Léonce, E.; Boutin, C.; Berthault, P.; Brotin, T.; Dutasta, J.-P.; Delacour, L.; Traoré, T.; Buisson, D.-A.; Taran, F.; Coudert, S.; Rousseau, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 4100.
- (103) Tassali, N.; Kotera, N.; Boutin, C.; Léonce, E.; Boulard, Y.; Rousseau, B.; Dubost, E.; Taran, F.; Brotin, T.; Dutasta, J.-P.; Berthault, P. *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 1783.
- (104) Seward, G. K.; Wei, Q.; Dmochowski, I. J. *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 2129.
- (105) Boutin, C.; Stopin, A.; Lenda, F.; Brotin, T.; Dutasta, J.-P.; Jamin, N.; Sanson, A.; Boulard, Y.; Leteurtre, F.; Huber, G.; Bogaert-Buchmann, A.; Tassali, N.; Desvaux, H.; Carrière, M.; Berthault, P. *Biorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 4135.
- (106) Palaniappan, K. K.; Ramirez, R. M.; Bajaj, V. S.; Wemmer, D. E.; Pines, A.; Francis, M. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 4849.
- (107) Klippel, S.; Döpfert, J.; Jayapaul, J.; Kunth, M.; Rossella, F.; Schnurr, M.; Witte, C.; Freund, C.; Schröder, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 493.
- (108) Laughlin, S. T.; Bertozzi, C. R. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2009**, *106*, 12.
- (109) Witte, C.; Martos, V.; Rose, H. M.; Reinke, S.; Klippel, S.; Schröder, L.; Hackenberger, C. P. R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 2806.
- (110) Melnikov, P.; Zanoni, L. *Biol. Trace Elem. Res.* **2010**, *135*, 1.
- (111) Xu, C.; Wang, J.; Chen, J. *Solvent Extr. Ion Exch.* **2012**, *30*, 623.
- (112) Sharma, J. N.; Kumar, A.; Kumar, V.; Pahan, S.; Janardanan, C.; Tessi, V.; Wattal, P. K. *Sep. Purif. Technol.* **2014**, *135*, 176.
- (113) Soliman, M. A.; Rashad, G. M.; Mahmoud, M. R. *Chem. Eng. J.* **2015**, *275*, 342.
- (114) Ding, D.; Lei, Z.; Yang, Y.; Feng, C.; Zhang, Z. *J. Hazard. Mater.* **2014**, *270*, 187.
- (115) Rogers, H.; Bowers, J.; Gates-Anderson, D. *J. Hazard. Mater.* **2012**, *243*, 124.
- (116) Ungaro, R.; Casnati, A.; Ugozzoli, F.; Pochini, A.; Dozol, J.-F.; Hill, C.; Rouquette, H. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1994**, *33*, 1506.
- (117) Dozol, J. F.; Dozol, M.; Macias, R. M. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* **2000**, *38*, 1.
- (118) Dai, Y.; Zhang, A. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2014**, *302*, 575.
- (119) Kumar, V.; Sharma, J. N.; Achuthan, P. V.; Hubli, R. C. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2014**, *299*, 1547.
- (120) Kumar, V.; Sharma, J. N.; Achuthan, P. V.; Hubli, R. C. *RSC Advances* **2014**, *4*, 805.
- (121) Ananyev, A. V.; Tsarenko, N. A.; Strelnikova, A. M.; Koshcheev, A. M.; Tsivadze, A. Y. *Russ. Chem. Bull.* **2014**, *63*, 1308.
- (122) Rais, J.; Tachimori, S.; Yoo, E.; Alexová, J.; Bubeníková, M. *Sep. Sci. Technol.* **2015**, *50*, 1202.
- (123) SHILOVA, E.; VIEL, P.; HUC, V.; BARRE, Y., Solid-liquid process for extraction of radionuclides from waste solutions, Brevet: EP 2631917 A1 28 août 2013
- (124) SHILOVA, E.; VIEL, P.; HUC, V.; BARRE, Y., Solid-liquid process for extraction of radionuclides from waste solutions, Brevet: WO 2013124831 A2, 29 août 2013
- (125) Bagheri Sadeghi, H.; Sid Kalal, H.; Hoveidi, H.; Molavi, Z.; Adeli Asl, N. *International Journal of Environmental Research* **2011**, *5*, 566.
- (126) Ahmadzadeh, S.; Rezayi, M.; Kassim, A.; Aghasi, M. *RSC Advances* **2015**, *5*, 39209.
- (127) Souchon, V.; Leray, I.; Valeur, B. *Chem. Commun.* **2006**, 4224.
- (128) Depauw, A.; Kumar, N.; Ha-Thi, M.-H.; Leray, I. *The Journal of Physical Chemistry A* **2015**.
- (129) Huang, C.; Zhang, X.; Li, G.; Jiang, Y.; Wang, Q.; Tian, R. *Human & Experimental Toxicology* **2014**, *33*, 554.
- (130) Cvjetko, P.; Cvjetko, I.; Pavlica, M. In *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 2010; Vol. 61, p 111.
- (131) Karbowska, B.; Zembruski, W.; Jakubowska, M.; Wojtkowiak, T.; Pasieczna, A.; Lukaszewski, Z. *J. Geochem. Explor.* **2014**, *143*, 127.

- (132) Antonia López Antón, M.; Alan Spears, D.; Somoano, M. D.; Rosa Martínez Tarazona, M. *Fuel* **2013**, *105*, 13.
- (133) Xiao, T.; Yang, F.; Li, S.; Zheng, B.; Ning, Z. *Sci. Total Environ.* **2012**, *421–422*, 51.
- (134) Martin Urik; Zuzana Kramarová; Jaroslav Ševc; Slavomír Čerňanský; Milan Kališ; Ján Medved; Pavol Littera; Marek Kolenčík; Gardosova, K. *Pol. J. Environ. Stud.* **2010**, *19*, 457.
- (135) Kikuchi, E.; Itoh, K.; Fujishima, A.; Yonezawa, T.; Kimura, T. *Chem. Lett.* **1990**, *19*, 253.
- (136) Memon, S. Q.; Memon, N.; Solangi, A. R.; Memon, J.-u.-R. *Chem. Eng. J.* **2008**, *140*, 235.
- (137) Zolgharnein, J.; Asanjarani, N.; Shariatmanesh, T. *Toxicol. Environ. Chem.* **2010**, *93*, 207.
- (138) Makrlík, E.; Toman, P.; Vaňura, P. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **2014**, *145*, 551.
- (139) Akhbari, K.; Morsali, A. *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 1977.
- (140) Makrlík, E.; Böhm, S.; Kvíčalová, M.; Vaňura, P.; Asfari, Z. *Mol. Phys.* **2015**, *1*.
- (141) Makrlík, E.; Vaňura, P.; Selucký, P.; Asfari, Z. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* **2015**, *81*, 169.
- (142) Makrlík, E.; Toman, P.; Vaňura, P.; Moyer, B. A. *Struct. Chem.* **2014**, *25*, 847.
- (143) Chester, R.; Couton, D.; Lobler, R.; Mocerino, M.; Ogden, M.; Pettersen, J.; Skelton, B.; White, A. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* **2011**, *71*, 471.
- (144) Chester, R.; Sohail, M.; Ogden, M. I.; Mocerino, M.; Pretsch, E.; De Marco, R. *Anal. Chim. Acta* **2014**, *851*, 78.
- (145) Kazemi, S. Y.; Hamidi, A. S.; Zolgharnein, J.; Lakouraj, M. M. *J. Anal. Chem.* **2014**, *69*, 646.
- (146) Roesky, C. E. O.; Weber, E.; Rambusch, T.; Stephan, H.; Gloe, K.; Czugler, M. *Chemistry – A European Journal* **2003**, *9*, 1104.
- (147) Abrahams, B. F.; FitzGerald, N. J.; Hudson, T. A.; Robson, R.; Waters, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3129.
- (148) Bouchet, A.; Brotin, T.; Cavagnat, D.; Buffeteau, T. *Chemistry – A European Journal* **2010**, *16*, 4507.
- (149) Bouchet, A.; Brotin, T.; Linares, M.; Ågren, H.; Cavagnat, D.; Buffeteau, T. *J. Org. Chem* **2011**, *76*, 1372.
- (150) Brotin, T.; Montserret, R.; Bouchet, A.; Cavagnat, D.; Linares, M.; Buffeteau, T. *J. Org. Chem* **2012**, *77*, 1198.
- (151) Brotin, T.; Cavagnat, D.; Berthault, P.; Montserret, R.; Buffeteau, T. *The Journal of Physical Chemistry B* **2012**, *116*, 10905.
- (152) Brotin, T.; Goncalves, S.; Berthault, P.; Cavagnat, D.; Buffeteau, T. *The Journal of Physical Chemistry B* **2013**, *117*, 12593.
- (153) Platt, J. R. *The Journal of Chemical Physics* **1949**, *17*, 484.
- (154) Berova, N.; Nakanishi, K. *Circular dichroism : principles and applications*; New York . Wiley-VCH: New York, 2000.
- (155) Canceill, J.; Collet, A.; Gabard, J.; Gottarelli, G.; Spada, G. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 1299.
- (156) Brotin, T.; Barbe, R.; Darzac, M.; Dutasta, J.-P. *Chemistry – A European Journal* **2003**, *9*, 5784.
- (157) Canceill, J.; Collet, A.; Gottarelli, G.; Palmieri, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 6454.
- (158) Cavagnat, D.; Buffeteau, T.; Brotin, T. *J. Org. Chem* **2008**, *73*, 66.
- (159) Brotin, T.; Cavagnat, D.; Dutasta, J.-P.; Buffeteau, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5533.
- (160) Brotin, T.; Cavagnat, D.; Buffeteau, T. *The Journal of Physical Chemistry A* **2008**, *112*, 8464.
- (161) Meier, U. C.; Detellier, C. *The Journal of Physical Chemistry A* **1998**, *102*, 1888.
- (162) Chung, K. C.; Namgoong, H.; Lee, J. W. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2004**, *25*, 609.
- (163) Haddadi, H.; Alizadeh, N.; Shamsipur, M.; Asfari, Z.; Lippolis, V.; Bazzicalupi, C. *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 6874.
- (164) Matthews, S. E.; Rees, N. H.; Felix, V.; Drew, M. G. B.; Beer, P. D. *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 729.
- (165) Alizadeh, N.; Haddadi, H. *Polyhedron* **2011**, *30*, 1267.
- (166) Darzac, M.; Brotin, T.; Rousset-Arzel, L.; Bouchu, D.; Dutasta, J.-P. *New J. Chem.* **2004**, *28*, 502.
- (167) Brotin, T.; Devic, T.; Lesage, A.; Emsley, L.; Collet, A. *Chemistry – A European Journal* **2001**, *7*, 1561.

- (168) Walters, I.; Bennion, C.; Connolly, S.; Croshaw, P. J.; Hardy, K.; Hartopp, P.; Jackson, C. G.; King, S. J.; Lawrence, L.; Mete, A.; Murray, D.; Robinson, D. H.; Stein, L.; Wells, E.; John Withnall, W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3645.
- (169) Vedejs, E.; Fuchs, P. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 822.
- (170) Huisgen, R. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1963**, *2*, 565.
- (171) Khan, N. S.; Riggle, B. A.; Seward, G. K.; Bai, Y.; Dmochowski, I. J. *Bioconjugate Chem.* **2015**, *26*, 101.
- (172) Riggle, B. A.; Wang, Y.; Dmochowski, I. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 5542.
- (173) Bräse, S.; Gil, C.; Knepper, K.; Zimmermann, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5188.
- (174) Ju, Y.; Kumar, D.; Varma, R. S. *J. Org. Chem* **2006**, *71*, 6697.
- (175) Bush, A. I. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 184.
- (176) Bush, A. I. *Trends Neurosci.* **2003**, *26*, 207.
- (177) Jurowski, K.; Szewczyk, B.; Nowak, G.; Piekoszewski, W. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry* **2014**, *19*, 1069.
- (178) Major, J. L.; Parigi, G.; Luchinat, C.; Meade, T. J. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2007**, *104*, 13881.
- (179) Esqueda, A. C.; López, J. A.; Andreu-de-Riquer, G.; Alvarado-Monzón, J. C.; Ratnakar, J.; Lubag, A. J. M.; Sherry, A. D.; De León-Rodríguez, L. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11387.
- (180) Luo, J.; Li, W.-S.; Xu, P.; Zhang, L.-Y.; Chen, Z.-N. *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 9508.
- (181) Matosziuk, L. M.; Leibowitz, J. H.; Heffern, M. C.; MacRenaris, K. W.; Ratner, M. A.; Meade, T. J. *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 12250.
- (182) Klenke, B.; Wiegand, I.; Schiffer, G., Amidine substituted beta-lactame compounds, their preparation and use as antibacterial agents, Brevet: WO2013110643, 23 janvier 2013
- (183) Tucker-Schwartz, A. K.; Farrell, R. A.; Garrell, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 11026.
- (184) Chong, H.-S.; Song, H. A.; Dadwal, M.; Sun, X.; Sin, I.; Chen, Y. *J. Org. Chem* **2010**, *75*, 219.
- (185) Oxenford, S. J.; Moore, S. P.; Carbone, G.; Barker, G.; O'Brien, P.; Shipton, M. R.; Gilday, J.; Campos, K. R. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 1563.
- (186) Frydman, L.; Scherf, T.; Lupulescu, A. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, *99*, 15858.
- (187) Xu, X.; Lee, J.-S.; Jerschow, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 8281.
- (188) Boutin, C.; Léonce, E.; Brotin, T.; Jerschow, A.; Berthault, P. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2013**, *4*, 4172.
- (189) Döpfert, J.; Witte, C.; Schröder, L. *ChemPhysChem* **2014**, *15*, 261.
- (190) Xu, D.; Warmuth, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 7520.
- (191) Wang, T.; Zhang, Y.-F.; Hou, Q.-Q.; Xu, W.-R.; Cao, X.-P.; Chow, H.-F.; Kuck, D. *J. Org. Chem* **2013**, *78*, 1062.
- (192) Tambut; eacute; Andr; eacute; Canceill, J.; Collet, A.; eacute; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1989**, *62*, 1390.
- (193) Brotin, T.; Daugey, N.; Vanthuyne, N.; Jeanneau, E.; Ducasse, L.; Buffeteau, T. *The Journal of Physical Chemistry B* **2015**, *119*, 8631.
- (194) Brotin, T.; Vanthuyne, N.; Cavagnat, D.; Ducasse, L.; Buffeteau, T. *J. Org. Chem* **2014**, *79*, 6028.
- (195) Bouchet, A.; Brotin, T.; Linares, M.; Cavagnat, D.; Buffeteau, T. *J. Org. Chem* **2011**, *76*, 7816.
- (196) Taratula, O.; Kim, M. P.; Bai, Y.; Philbin, J. P.; Riggle, B. A.; Haase, D. N.; Dmochowski, I. *J. Org. Lett.* **2012**, *14*, 3580.
- (197) Yu, J.-T.; Huang, Z.-T.; Zheng, Q.-Y. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 1359.